



การพัฒนาศิลปะเพื่อผิวขาวจากสารสกัดรากหม่อนในรูปแบบแอลฟาเจล



วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตาม
หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการพัฒนาผลิตภัณฑ์สมุนไพร
วิทยาลัยการแพทย์แผนตะวันออก

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยรังสิต

ปีการศึกษา 2566



**DEVELOPMENT OF SKIN WHITENING CREAM FROM *Morus alba* Linn.
ROOT EXTRACT IN ALPHA GEL FORM**



**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE IN ORIENTAL MEDICINE
FACULTY OF ORIENTAL MEDICINE**

**GRADUATE SCHOOL, RANGSIT UNIVERSITY
ACADEMIC YEAR 2023**

วิทยานิพนธ์เรื่อง

การพัฒนาครีมเพื่อผิวขาวจากสารสกัดรากหม่อนในรูปแบบแอลฟาเจล

โดย

วิษุอร แสงอ่วม

ได้รับการพิจารณาให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการแพทย์แผนตะวันออก

มหาวิทยาลัยรังสิต

ปีการศึกษา 2566

ดร.จิรพันธ์ ม่วงเจริญ
ประธานกรรมการสอบ

ดร.วสุภา พลาขงาม
กรรมการ

ผศ.ดร.ประสาน ตั้งยืนยงวัฒนา
กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา

บัณฑิตวิทยาลัยรับรองแล้ว

(ผศ. ร.ต. หญิง ดร. วรณี สุขสาตร)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

15 ธันวาคม 2566

Thesis entitled

**DEVELOPMENT OF SKIN WHITENING CREAM FROM *Morus alba* Linn.
ROOT EXTRACT IN ALPHA GEL FORM**

by

WICHUON SANGOUAM

was submitted in partial fulfillment of the requirements
for the degree of Master of Science in Oriental Medicine

Rangsit University
Academic Year 2023

Jirapan Moungjaroen, Ph.D.
Examination Committee Chairperson

Waluga Plaingam, Ph.D.
Member

Asst.Prof.Prasan Tangyuenyongwatana, Ph.D.
Member and Advisor

Approved by Graduate School

(Asst.Prof.Plt.Off. Vanee Sooksatra, D.Eng.)

Dean of Graduate School

December 15, 2023

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้เป็นอย่างดี ผู้วิจัยต้องขอขอบคุณ ผศ.ดร.ประสาน ตั้งยืนยงวัฒนา และดร.ภญ.จิรพันธ์ ม่วงเจริญ ที่ปรึกษางานวิจัยในครั้งนี้ ที่ให้ความสนใจช่วยเหลือ และเป็นที่ปรึกษาให้คำแนะนำเป็นอย่างดีมาโดยตลอด รวมทั้งวิทยาลัยการแพทย์แผนตะวันออก มหาวิทยาลัยรังสิต และศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้การสนับสนุนเครื่องมือและอุปกรณ์ต่าง ๆ ในการดำเนินงานวิจัยในครั้งนี้สำเร็จไปได้ด้วยดี

วิชูธร แสงอ่วม

ผู้วิจัย



6304774 : วิษุอร แสงอ่วม
 ชื่อวิทยานิพนธ์ : การพัฒนาครีมเพื่อผิวขาวจากสารสกัดรากหม่อนในรูปแบบแอลฟาเจล
 หลักสูตร : วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาการแพทย์แผนตะวันออก
 อาจารย์ที่ปรึกษา : ผศ.ดร.ประสาน ตั้งอินยงวัฒนา

บทคัดย่อ

การพัฒนาครีมเพื่อผิวขาวจากสารสกัดรากหม่อนในรูปแบบแอลฟาเจล มีวัตถุประสงค์เพื่อเตรียมและประเมินคุณลักษณะของสูตรครีมตำรับที่มีความคงตัวมาพัฒนาสูตรครีมสารสกัดรากหม่อนในรูปแบบแอลฟาเจล และเพื่อศึกษาสารสำคัญจากสารสกัดรากหม่อน (*Morus alba* Linn.) ด้วยวิธี HPTLC โดยเตรียมสารสกัดด้วยวิธีการหมักด้วยเอทานอล วิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญ เตรียมครีมตำรับในรูปแบบแอลฟาเจลที่มีความแตกต่างกันของ Emollient 10% โดยน้ำหนัก (เซียร์บัตเตอร์, โกโก้บัตเตอร์, น้ำมันขาว, แร็กมะพร้าว และ ลาโนลิน) แล้วเก็บรักษาที่สภาวะเร่ง และที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 1 เดือน เพื่อประเมินความคงตัวทางกายภาพ สังเกตลักษณะภายนอกของเนื้อครีม, สี, กลิ่น, ความรู้สึกเมื่อทา, ความเหนียว, การแยกชั้น, ความเป็นกรด-ด่าง และตรวจสอบลักษณะโครงสร้าง Maltese Cross ของครีมในรูปแบบแอลฟาเจล ด้วยการส่องกล้องจุลทรรศน์ภายใต้แสงโพลาไรซ์ จึงคัดเลือกสูตรที่มีความคงตัวทางกายภาพมาใส่สารสกัดจากรากหม่อนที่ความเข้มข้น 1, 3, 5, 7 และ 9% โดยน้ำหนัก แล้วนำไปศึกษาความคงตัวโดยทดสอบเก็บไว้ในสภาวะเร่ง และในอุณหภูมิต่างๆ โดยสรุป ครีมตำรับพื้นที่มี Emollient 10% เป็นเซียร์บัตเตอร์ พบ Maltese Cross ขนาดอนุภาคเล็ก และหนาแน่น ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่ทำให้เนื้อครีมมีความคงตัว เรียบเนียน ปกป้องผิวได้ดี จึงนำมาพัฒนาครีมเพื่อผิวขาวจากสารสกัดรากหม่อน พบว่าที่ความเข้มข้นสารสกัดรากหม่อน 3% โดยน้ำหนัก ให้สูตรครีมที่มีความคงตัวมากที่สุด และจากการศึกษาสารออกฤทธิ์ด้วยวิธี HPTLC พบโมรูซิน แต่ไม่พบออกซีเรสเวอร่าทรอล เมื่อเทียบกับสารมาตรฐาน

(วิทยานิพนธ์มีจำนวนทั้งสิ้น 59 หน้า)

คำสำคัญ: สารสกัดรากหม่อน แอลฟาเจล Emollient Maltese cross

6304774 : Wichuon Sangouam
 Thesis Title : Development of Skin Whitening Cream from *Morus alba* Linn. Root
 Extract in Alpha Gel Form
 Program : Master of Science in Oriental Medicine
 Thesis Advisor : Asst.Prof.Prasan Tangyuenyongwatana, Ph.D.

Abstract

The objectives of the development of skin whitening cream from mulberry (*Morus alba* Linn.) root extract in alpha gel form were to prepare as well as assess the stability of the cream formulation in alpha gel form and to study the major chemical ingredients of the mulberry root extract by HPTLC method. The extract was prepared by maceration of the mulberry root with ethanol, and the active ingredients in the extract were analyzed. Base creams were prepared in the alpha gel form with different 10% w/w emollients (shea butter, cocoa butter, white oil, coconut wax, and lanolin) and stored at accelerated condition and at room temperature for 1 month to assess the physical stability. The investigated physical properties included the appearance, color, smell, feeling when applying it, viscosity, phase separation, and pH. The specific structure of maltese cross of the cream was examined under a polarized light microscope to find the size and number of structures. The most stable cream formulation was chosen, and the mulberry extract amount at 1, 3, 5, 7, and 9% w/w were added to the cream. The cream was stored under accelerated conditions at different temperatures to test the physical stability. In summary, the base cream containing 10% shea butter showed the smallest and most dense maltese cross among others. These features made the cream stable and smooth, while giving good skin protection. It was found that the extract with 3% w/w gave the most stable cream formula. The HPTLC study showed that the main chemical ingredients when compared with standard substances in the mulberry extract were morucin, while oxyresveratrol was not found.

(Total 59 pages)

Keywords: *Morus Alba* Linn. Root extract, Alpha Gel, Emollient, Maltese Cross

Student's Signature Thesis Advisor's Signature

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญรูป	ช
บทที่ 1	บทนำ
	1
1.1 ที่มาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์การวิจัย	2
1.3 คำถามการวิจัย / สมมติฐานการวิจัย	2
1.4 กรอบแนวคิดการวิจัย	3
1.5 นิยามศัพท์	3
บทที่ 2	ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง / ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง
	4
2.1 หม่อน หรือ มัลเบอรี่ (Mulberry)	4
2.2 ผีเสื้อไหม	8
2.3 กระบวนการสร้างเมดสีไหม	16
2.4 สารออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส	19
2.5 อิมัลชัน	21
2.6 ระบบแอลฟาเจล (Alpha Gel)	24
2.7 หลักการโครมาโทกราฟี (Chromatography)	29
2.8 การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (Validation Method)	31

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 3	
ระเบียบวิธีการวิจัย	34
3.1 ขอบเขตวิธีดำเนินการวิจัย	34
3.2 เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย	34
3.3 วิธีดำเนินงานวิจัย	35
3.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ	41
บทที่ 4	
ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย	42
4.1.1 ผลการเตรียมสารสกัดจากรากหม่อน	42
4.1.2 ผลการแยกองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบด้วยเทคนิค รงกละขีฟิวบาง (HPTLC)	42
4.1.3 ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างสารสกัดรากหม่อนด้วย (HPTLC)	43
4.1.4 ผลการเตรียมสูตรตำรับครีมพื้นในรูปแบบแอลฟาเจล	45
4.1.5 การพัฒนาครีมจากสารสกัดรากหม่อนในรูปแบบแอลฟาเจล	49
บทที่ 5	
สรุปผลและข้อเสนอแนะ	54
5.1 สรุปผลการวิจัย	54
5.2 ข้อเสนอแนะ	55
บรรณานุกรม	56
ประวัติผู้วิจัย	59

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 ชนิดและร้อยละของสารประกอบทางเคมีของรากหม่อน	6
2.2 กลไกการออกฤทธิ์และสารยับยั้งการทำงานของกระบวนการสร้างเมลานิน	18
3.1 แสดงอุปกรณ์ เครื่องมือ และสารเคมีที่ใช้ในการวิจัย	34
3.2 แสดงสูตรตำรับครีมพื้นในรูปแบบแอลฟาเจล	39
4.1 ผลของ Method Validation Parameters ของ Morucin โดยวิธี HPTLC	44
4.2 Intraday และ Interday Precision (%CV) ของ Morucin	44
4.3 Recovery Study ของ Morucin	45
4.4 ค่าความหนืดของสูตรครีมตำรับพื้นทั้ง 5 สูตร หลังเก็บในสภาวะเร่ง และที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 เดือน	47
4.5 ความเป็นกรด-ด่าง ของสูตรครีมตำรับพื้นทั้ง 5 สูตร ก่อน, หลังเก็บในสภาวะเร่ง และที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 เดือน	48
4.6 ค่าความหนืดของสูตรครีมตำรับที่พัฒนาจากสารสกัดรากหม่อนทั้ง 5 สูตร หลังเก็บในสภาวะเร่ง จำนวน 6 รอบ, ที่อุณหภูมิห้อง, อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส, อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 1 เดือน	51
4.7 ความเป็นกรด-ด่างของสูตรครีมตำรับที่พัฒนาจากสารสกัดรากหม่อนทั้ง 5 สูตร ก่อน, หลัง หลังเก็บในสภาวะเร่ง จำนวน 6 รอบ, ที่อุณหภูมิห้อง, อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส, อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 1 เดือน	52

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1	ผลหม่อน ใบ และกิ่งหม่อน 4
2.2	โครงสร้างผิวหนังชั้น Epidermis 9
2.3	กระบวนการสร้างเม็ดสีเมลานินภายในผิวหนัง 17
2.4	แสดงโครงสร้างออกซีเรสเวอราทรอล 19
2.5	แสดงโครงสร้างเรสเวอราทรอล 20
2.6	แสดงโครงสร้างมอร์ซิน 20
2.7	(b) แสดงโครงสร้างของระบบแอลฟาเจล 24
2.8	แสดงโครงสร้างผลึกของแอลฟาเจลเทคนิค WAXS (Wide Angle X-ray Scattering) 25
2.9	แสดงลักษณะของสารลดแรงตึงผิว / ระบบน้ำที่สังเกตได้ที่อุณหภูมิสูงกว่าและต่ำกว่า Tc รูปบนเป็นลักษณะที่สังเกตได้ในสภาวะแสงปกติ / รูปล่างเป็นลักษณะที่สังเกตได้ภายใต้แสงโพลาไรซ์ 26
2.10	แสดง Wide Angle X-ray Scattering (WAXS) และ Small Angle X-ray Scattering (SAXS) ของผลึกเหลว และแอลฟาเจล 27
2.11	แสดงลักษณะโปร่งแสงสีน้ำเงินของโซล (sol) หรือเจล (Gel) ที่โครงสร้างคอลลอยด์ของแอลฟาเจล (a.การเปลี่ยนแปลงหลัง Sonication, b. สังเกตด้วยกล้องจุลทรรศน์) 28
2.12	แสดงลักษณะอิมัลชันที่ปรากฏภายใต้ Polarizing Photomicrograph 29
4.1	ลักษณะสารสกัดจากรากหม่อน 42
4.2	ลายพิมพ์โครมาโตกราฟีของสารสกัดจากรากหม่อน (a), สารมอร์ซิน (b), สารมาตรฐานออกซีเรสเวอราทรอล (c) และของผสมของสารสกัดจากรากหม่อนกับสารมาตรฐานออกซีเรสเวอราทรอล (d) 43
4.3	ลักษณะสูตรตำรับครีมพื้นในรูปแบบแอลฟาเจล ทั้ง 5 สูตร 46

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
4.4	ลักษณะของครีมดำรับพื้นในรูปแบบแอลฟาเจล ทั้ง 5 สูตร หลังเก็บที่สภาวะเร่งจำนวน 6 รอบ ที่ผ่านการทดสอบการแยกชั้น	46
4.5	ลักษณะ Maltese Cross ของครีมดำรับพื้นในรูปแบบแอลฟาเจล ทั้ง 5 สูตร	49
4.6	ลักษณะครีมพื้นที่ได้สารสกัดจากรากหม่อนที่ความเข้มข้น 1, 3, 5, 7 และ 9 % โดยน้ำหนัก หลังเตรียมเสร็จ	50
4.7	ลักษณะครีมพื้นที่ได้สารสกัดจากรากหม่อนที่ความเข้มข้น 1, 3, 5, 7 และ 9 % โดยน้ำหนัก หลังเก็บที่สภาวะเร่งจำนวน 6 รอบ ที่ผ่านการทดสอบการแยกชั้น	50
4.8	ปริมาณความเข้มข้นของสารสกัดรากหม่อนที่เพิ่มขึ้น ทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)	52
4.9	ลักษณะ Maltese Cross และ Particle Size ของสูตรครีมดำรับพื้น B1 และครีมดำรับที่พัฒนาจากสารสกัดรากหม่อนในรูปแบบแอลฟาเจล ทั้ง 5 สูตร	53

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

สังคมไทยในปัจจุบันคนไทยทุกเพศทุกวัยให้ความสนใจเรื่องสุขภาพผิวมากยิ่งขึ้น มีความต้องการให้ผิวของตนเองดูขาวกระจ่างใส ไร้จุดด่างดำ แต่ด้วยสภาวะสิ่งแวดล้อมในประเทศไทย ที่มีทั้งแสงแดด ฝุ่น คาร์บอนมอนอกไซด์ มลภาวะทางสิ่งแวดล้อม และอายุที่เพิ่มขึ้น เป็นปัจจัยกระตุ้นการสร้างเม็ดสีผิว (Melanin) ที่ส่งผลให้สีผิวคล้ำดำ อันเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดความไม่มั่นใจในสีผิวของตนเอง (ประไพพิศ อินเสน, 2561) จากสาเหตุนี้จึงมีนวัตกรรมต่างๆ มากมาย ทั้งการรับประทานวิตามินเพื่อผิวขาวกระจ่างใส การฉีด การเลเซอร์ รวมไปถึงการผลิตและพัฒนาผลิตภัณฑ์จากสารเคมีต่างๆ เพื่อทำให้ผิวขาวอย่างมากมายในท้องตลาด มีการใส่สารปรอท (Mercury), ไฮโดรควิโนน (Hydroquinone), สเตียรอยด์ (Steroid) และกรดเรติโนอิก (Retinoic Acid) เป็นต้น ซึ่งเป็นสารอันตรายที่มีผลทำให้ผิวเกิดการระคายเคือง ลอก แดง และอักเสบ เมื่อใช้ติดต่อกันเป็นระยะเวลานาน ด้วยสาเหตุดังกล่าวทำให้มีกระแสการใช้ผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ โดยเฉพาะผลิตภัณฑ์จากสมุนไพร ซึ่งเป็นที่นิยมนำมาพัฒนาผลิตภัณฑ์ครีมทาผิว เซรั่ม น้ำตบ และรูปแบบอื่นๆ อย่างมากมาย ในท้องตลาด (ชุดินันท์ ประสิทธิ์ฐิติปรีชา, เพียงเพ็ญ ธิโสดา, และ กฤตติยารัตน์ สมวงศ์, 2554)

การพัฒนารูปแบบครีมบำรุงผิวในรูปแบบต่างๆ เพื่อตอบสนองความต้องการของผู้บริโภคในเรื่องของความชุ่มชื้น เนื้อครีมบางเบา ให้ความรู้สึกสบายผิว และราคาที่สมเหตุสมผล จึงมีแนวคิดที่จะพัฒนารูปแบบครีมในรูปแบบแอลฟาเจล ซึ่งมีลักษณะโครงสร้างแบบแผ่นลามิเลลาสองชั้น (Bimolecular Membranes) ในระบบแบบหกเหลี่ยม (Bilayer Hexagonal) ลักษณะคล้ายกับเนื้อเยื่อระหว่างเซลล์ (Intercellular Cell) ในผิวของมนุษย์ (Miyahara, Yonezawa, & Miyakawa, 2017) มีคุณสมบัติปิดกั้นสูง ใช้เป็นระบบนำพาและปลดปล่อยสารสำคัญให้แทรกซึมเข้าไปในชั้นผิวได้ลึกแต่ในขณะเดียวกันก็สามารถปกป้องผิวจากสภาพแวดล้อมภายนอกเปรียบเหมือนผิวหนังชั้นที่สองของมนุษย์ (วิชุดา จันทรข้างแรม, 2551) จากการศึกษาข้อมูลสารสำคัญของหม่อน (*Morus alba* Linn.) หรือไวท์มัลเบอร์รี่ (White Mulberry) มีสารออกฤทธิ์หลักทางชีวภาพ คือ มัลเบอร์รี่โริไซด์เอ

(Mulberroside A) เมื่อมัลเบอร์โรไซด์เอ เข้าสู่ร่างกายจะถูกเปลี่ยนแปลงเป็นออกซีเรสเวอราทรอล (Oxyresveratrol), เรสเวอราทรอล (Resveratrol) และ โมรูซิน (Morusin) ที่มีรายงานฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสซึ่งเป็นสารตั้งต้นการสร้างเม็ดสีผิว สาเหตุของผิวหมองคล้ำ มีจุดด่างดำ (ประไพพิศ อินเสน, 2561)

ดังนั้น ผู้วิจัยจึงมีแนวคิดพัฒนาตำรับครีมทาผิวเพื่อผิวขาวที่เตรียมจากการสกัดรากหม่อนในรูปแบบแอลฟาเจล เพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดจากรากหม่อนและพิสูจน์เอกลักษณ์สารออกซีเรสเวอราทรอล เรสเวอราทรอล และ โมรูซิน ซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์ด้วยวิธี HPTLC และเพื่อพัฒนาครีมให้มีความคงตัวทางกายภาพที่เหมาะสมต่อสภาพผิวของคนไทย ผลที่ได้จากการวิจัยจะทำให้ได้สารสกัดที่ปลอดภัยจากธรรมชาติ สามารถนำไปศึกษาวิจัยและพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ในรูปครีมช่วยให้ผิวขาว จำหน่ายในเชิงพาณิชย์ และช่วยเพิ่มมูลค่าให้กับพืชสมุนไพรที่หาได้ในท้องถิ่น ซึ่งจะช่วยส่งเสริมสนับสนุนพืชสมุนไพรในท้องถิ่นต่อไป (พิมพ์ร ลีลาพรพิสิฐ, 2540)

1.2 วัตถุประสงค์การวิจัย

- 1.2.1 เพื่อเตรียม และพัฒนาสูตรครีมสารสกัดจากรากหม่อนในรูปแบบแอลฟาเจล (Alpha gel)
- 1.2.2 เพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดจากรากหม่อนและพิสูจน์เอกลักษณ์สารออกซีเรสเวอราทรอล และ โมรูซิน ซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์ด้วยวิธี HPTLC
- 1.2.3 เพื่อศึกษาความคงตัวของตำรับครีมพื้นและครีมที่พัฒนาจากสารสกัดรากหม่อนในรูปแบบแอลฟาเจล

1.3 คำถามการวิจัย / สมมติฐานการวิจัย

การพัฒนาครีมจากสารสกัดจากรากหม่อนในรูปแบบแอลฟาเจล ที่มีปริมาณสารตั้งต้นในตำรับแตกต่างกันให้ความคงตัวแตกต่างกันหรือไม่

1.4 กรอบแนวคิดการวิจัย

สกัดรากหม่อนด้วยเมทานอลเพื่อใช้เป็นสารออกฤทธิ์ช่วยให้ผิวขาว ด้วยวิธีการหมัก (Maceration) และระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยตัวทำละลาย (Rotary Evaporator) จนได้เป็นสารสกัดรากหม่อนเข้มข้น จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไปวิเคราะห์ปริมาณออกซีเรสเวอราทรอล และโมรูซินด้วยวิธี HPTLC

พัฒนาสูตรตำรับครีมในรูปแบบ แอลฟาเจล โดยมีทั้งหมด 5 สูตร ใส่สารตั้งต้น 1,3,5,7 และ 9% ตามลำดับจากนั้นทดสอบความคงตัวของครีมตำรับเพื่อศึกษาลักษณะทางกายภาพ และศึกษาความคงตัวของแต่ละสูตรตำรับ จากนั้นนำมาพิสูจน์เอกลักษณ์แอลฟาเจล เพื่อวิเคราะห์ลักษณะอนุภาค และความหนาแน่นหลังทดสอบความคงตัวทางกายภาพ

1.5 นิยามศัพท์

สารสกัดรากหม่อน สารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยเอทานอลจากรากหม่อน (*Morus alba* Linn.)

แอลฟาเจล ระบบอิมัลชันที่ผสมวัฏภาคน้ำและวัฏภาคน้ำมันให้เป็นเนื้อเดียวกันที่สร้างขึ้นจากแอมฟิฟิลิก (Amphiphilic) ในสถานะของแข็งบรรจุโครงสร้างของคอลอยด์แบบ Lamellar - Bilayers

Emollient สารไขมันที่เคลือบบนร่องผิวหนังบนสุด ช่วยให้ผิวนุ่ม เรียบ ลื่น

Maltese cross ลักษณะโครงสร้างที่พบในแอลฟาเจล ผ่านการส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ ภายใต้แสงโพลาไรซ์

บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง / ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

2.1 หม่อน หรือ มัลเบอร์รี่ (Mulberry)

หม่อนที่มีการปลูกมากในประเทศไทยมีอยู่ด้วยกัน 2 ชนิด ได้แก่ หม่อนที่ปลูกเพื่อนำผลมารับประทาน ชื่อสามัญ Black Mulberry ชื่อวิทยาศาสตร์ *Morus nigra* Linn. หม่อนชนิดนี้มีผลโตเป็นช่อ ผลสุกผลมีสีดำ รสเปรี้ยวอมหวาน ส่วนหม่อนอีกชนิดคือหม่อนที่ใช้ปลูกเพื่อการเลี้ยงไหม เป็นหลักชื่อสามัญ White Mulberry ชื่อวิทยาศาสตร์ *Morus alba* Linn. เป็นชนิดที่ผู้วิจัยสนใจนำมาศึกษาสารสกัดจากราก หม่อนชนิดนี้ให้ใบใหญ่และออกใบมาก นิยมปลูกไว้เพื่อเป็นอาหารในการเลี้ยงหนอนไหม อันเป็นจุดกำเนิดของอุตสาหกรรมผ้าไหมไทย (ฐานข้อมูลเครื่องยาสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี, 2553)



รูปที่ 2.1 ผลหม่อน ใบ และกิ่งหม่อน

ที่มา: สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน), 2563

ชื่อสามัญ :	Mulberry tree, White Mulberry
ชื่อวิทยาศาสตร์:	<i>Morus alba</i> Linn.
จัดอยู่ในวงศ์:	MORACEAE
ชื่อท้องถิ่น:	มอน (ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ), ซึงเอีย (จีนแต้จิ๋ว), ซางเย่ (จีนกลาง)

2.1.1 ข้อมูลทางพฤกษศาสตร์

หม่อนหรือมัลเบอร์รี่ มีถิ่นกำเนิดแถบเทือกเขาหิมาลัยและจีนตอนใต้ เจริญเติบโตทั้งในเขตหนาวที่มีอุณหภูมิต่ำกว่าศูนย์องศาเซลเซียสไปจนถึงเขตที่มีอากาศร้อน ในประเทศไทยพบการปลูกมากในภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือเจริญเติบโตได้ดีในดินแทบทุกชนิดยกเว้น ในดินที่มีการระบายน้ำได้ไม่ดี หม่อนเป็นพืชยืนต้น ไม้พุ่มสูง 2-5 เมตร ลำต้นมีลักษณะกลม ผิวเรียบ ไม่มีหนาม มียางสีขาวข้นคล้ายน้ำมัน ราก มีเปลือกรากสีน้ำตาลแดง หรือสีเหลืองแดง มีเส้นรือยแตกที่เปลือกผิว ประกอบด้วยรากแก้ว รากแขนง และรากฝอย หม่อนที่ขยายพันธุ์ด้วยกิ่งมีเพียงรากแขนง และรากฝอย ใบ เป็นใบเดี่ยว เรียงสลับ รูปไข่ขอบใบหยัก ปลายใบแหลม กว้าง 8-14 เซนติเมตร ยาว 12-16 เซนติเมตร ผิวใบสาก สีเขียวเข้ม มีเส้นใบตามยาว 3 เส้น ก้านใบเรียวเล็ก ดอกสีขาวหม่นหรือแกมเขียว เป็นรูปทรงกระบอก ออกเป็นช่อแต่งกลมเล็ก ดอกตัวผู้และตัวเมียแยกกัน ดอกย่อยมี 4 กลีบ โดยจะออกตามซอกใบและปลายกิ่งยาวประมาณ 1 นิ้ว ผล เป็นผลรวมทรงกระบอกออกเป็นพวงขนาดกว้าง 1 เซนติเมตร ยาว 3 เซนติเมตร สีของผลอ่อนเป็นสีเขียวอ่อน เมื่อแก่เต็มที่จะมีสีแดงเข้ม ไปจนเกือบดำ มีรสหวานอมเปรี้ยว (ฐานข้อมูลเครื่องยาสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี, 2553)

2.1.2สรรพคุณทางการแพทย์พื้นบ้าน

ในทางการแพทย์แผนไทยใช้ ใบ รสจืดเย็น เป็นยาขับเหงื่อ แก้ไข้ แก้ตัวร้อน แก้ร้อนในกระหายน้ำ ทำยาต้มใช้อมแก้เจ็บคอ และทำให้เนื้อเยื่อชุ่มชื้น แก้ไอ ระงับประสาท หรือต้มเอาน้ำล้างตา แก้กตาแดง และ ฝ้าฟาง ใบแก่ ตากแห้งมวนสูบเหมือนบุหรี่ แก่ริดสีดวงจมูก ใบ ใช้ทำขามิฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระ น้ำต้มและยาชงจากใบ มีฤทธิ์เป็นยาชะล้าง ใช้ล้างตาแก้ตาอักเสบ อังไฟและทาด้วยน้ำมันมะพร้าวใช้วางบนแผล หรือตำใช้ทาแก้แมลงกัด เป็นยาขับเหงื่อ แก้ไอ น้ำต้มใบใช้กลั้วคอแก้เจ็บคอ แก้อาการติดเชื้อ ผสมกับหอมหัวใหญ่เป็นยาพอกรักษาแผลจากการนอนกดทับ

ในทางการแพทย์แผนจีน: ใช้ เปลือกราก กิ่งอ่อน ใบและผล รักษาโรคเกี่ยวกับ ทรวงอก ขับปัสสาวะ แก้ไอ หืด วัณโรคปอด โรคปวดข้อ ใช้เปลือกต้น เป็นยาถ่ายและยาขับพยาธิ (ฐานข้อมูลเครื่องยาสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี, 2553)

2.1.3 ข้อมูลทางเภสัชวิทยาของหม่อน

คุณสมบัติทางเภสัชวิทยาของรากหม่อนซึ่งเป็นส่วนที่ผู้วิจัยศึกษา และสนใจ นำมาศึกษาสารสกัดจากรากหม่อน มีสารต้านอนุมูลอิสระคือ กลุ่มฟลาโวนอยด์ ได้แก่ มัลเบอร์ริน (Mulberrin), มอริซิน (Morusin), โมริน (Morin) สารมัลเบอโรไซด์ เอฟ (Mulberroside F) สารอีกกลุ่มหนึ่งคือ สารกลุ่มไฮดรอกซีสตีลเบน (Hydroxystilbene) ได้แก่ ออกซีเรสเวราทรอล (Oxyresveratrol) และเรสเวราทรอล (Resveratrol) ที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส เกี่ยวข้องกับกระบวนการสร้างเม็ดสีที่ผิวหนังทำให้ผิวกระจ่างใส (วิชุดา จันทรขันธ์, 2561) จากการศึกษาในสัตว์ทดลองหรือในหลอดทดลองของสารสกัดของหม่อนมีฤทธิ์ทางยาหลายประการได้แก่ ฤทธิ์ยับยั้งการสร้างเมลานิน (Melanin) ได้แก่สาร 2-ออกซีเรสเวราทรอล (2-Oxyresveratrol) จากกิ่งหม่อนและสารมัลเบอโรไซด์ เอฟ จากใบและสารสกัดจากเปลือกกรากมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ซึ่งเกี่ยวข้องในกระบวนการสร้างเม็ดสีที่ผิวหนัง ฤทธิ์ลดความดันโลหิต สารสกัดเอธานอลจากใบ และบิวทานอลจากเปลือกกราก มีสารฟลาโวนอยด์ที่มีฤทธิ์ลดความดันโลหิตในหนูทดลอง เปลือกกรากของต้นหม่อนพบว่ามีสาร บีทูลินิกแอซิด เอ็ม มัลเบอร์ริน (Betulinic acid m mulberrinm), มัลเบอโรโครเมิน (Mulberrochromene), เบต้าอไมริน (Beta-Amyrin), ไซโคลมัลเบอร์ริน (Cyclomulberrin), ไซโคลมัลเบอโรโครเมิน (Cyclomulberrochromene), อันเดคาเพนอล (Undecaprenol), ดูเดคาเพนอล (Dodecaprenol), ยาง, น้ำตาลกลูโคส เป็นต้น

ตารางที่ 2.1 ชนิดและร้อยละของสารประกอบทางเคมีของรากหม่อน

ชนิดของสารประกอบทางเคมี	ร้อยละของสารประกอบทางเคมี (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง)	เอกสารอ้างอิง
1. Alkaloid		
1.1 2-O- α -D-galactopyranosyl-1 - deoxynojirimycin (GAL-DNJ)	0.0001-0.00015	Asano et al.,1994
1.2 fagomine	0.0059	Asano et al.,1994
2. Flavonoids		
2.1 morusinol (เปลือกกราก)	0.0200	konno et al., 1977
2.2 moracenin (เปลือกกราก)	0.0010	nomura et al.,1981

ตารางที่ 2.1 ชนิดและร้อยละของสารประกอบทางเคมีของรากหม่อน (ต่อ)

ชนิดของสารประกอบทางเคมี	ร้อยละของสารประกอบทางเคมี (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง)	เอกสารอ้างอิง
3. Stibenoids		
3.1 mulberroside A	0.5100	Zhou et al.,2013
3.2 oxyresveratrol	0.0375	Zhou et al.,2013
3.3 resveratral	0.0098	Zhou et al.,2013

ที่มา : ยลดา ศรีเศรษฐ, กนกวรรณ จารุกัจฉา และวรัญญา จตุพรประเสริฐ, 2559

2.1.4 การศึกษาในหลอดทดลองของรากหม่อน

การศึกษาในหลอดทดลองของสารสกัดและสารสำคัญจากเปลือกรากหม่อน มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ของเชื้อเอชไอวี ฤทธิ์ต้านเชื้อรา และต้านเชื้อไวรัสที่ก่อโรคริมที่อวัยวะเพศ ส่วนการศึกษาในสัตว์ทดลอง พบฤทธิ์แก้ไอ ขับปัสสาวะ ลดอาการบวม และฤทธิ์สงบประสาท (ยลดา ศรีเศรษฐ และคณะ, 2559)

2.1.5 ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส (Anti-Tyrosinase activity)

Chang และคณะ ทำการทดลองศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ด้วยวิธีโดปาโครม (Dopachrome) ของสารสกัดหยาบเอทานอลของกิ่งหม่อน พบว่าค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) คือ 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดที่ความเข้มข้น 15, 30, 45 และ 60 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ร้อยละ 40, 60, 65 และ 78 ตามลำดับ (Chang, Juang, & Wang, 2011)

2.1.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จากการศึกษาของ Kim และ Uyama ศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสด้วยวิธีโดปาโครมของสารสกัดมัลเบอร์ไรซ์ไคเอและออกซีเรสเวราทรอลที่สกัดได้จากสารสกัดหยาบ

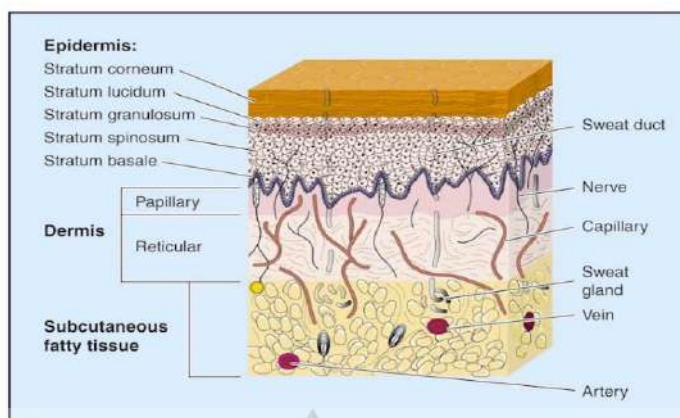
เอทานอลของรากหม่อน พบว่า ออกซิเรสเวอราทรอลมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ดีกว่า มัลเบอร์โรไซด์เอ มีค่า IC_{50} คือ 0.49 และ 53.6 ไมโครโมลต่อลิตรตามลำดับ (Kim & Uyama, 2005)

จากการศึกษาการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสของกาไหมเหลือง สุรินทร์และรากหม่อนพันธุ์นครราชสีมา 60 โดยใช้ตัวอย่างสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล จากผลการทดลองพบว่ากาไหมเหลืองสุรินทร์ รากของหม่อนพันธุ์นครราชสีมา 60 ทั้งสดและแห้ง ให้ % Tyrosinase inhibition สูงสุดคือ 115.109 ไมโครกรัมต่อลิตร ,202.526 ไมโครกรัมต่อลิตร และ 211.786 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (วิชุดา จันทรข้างแรม, 2551)

การวิจัยของ Faizatun และคณะ ใช้เมทานอลเข้มข้นร้อยละ 85 โดยปริมาตร ในการสกัดรากหม่อน และทดสอบฤทธิ์ต้านไทโรซิเนส พบว่ามีค่า IC_{50} เท่ากับ 68.3 ไมโครกรัมต่อลิตร เมื่อสกัดรากหม่อนด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 96 โดยปริมาตร มีฤทธิ์ต้านไทโรซิเนส โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 75.37 ± 1.91 ไมโครกรัมต่อลิตร (Faizatun, Anwar, Djajadisasra, & Mardiyati, 2017)

2.2 ผิวหนัง

ผิวหนังเป็นอวัยวะส่วนหนึ่งของร่างกายมนุษย์ที่มีพื้นที่มากที่สุดโดยคิดเป็นน้ำหนักประมาณ 16 % ของน้ำหนักตัว ความหนาทั้งหมดของผิวหนังมีความหนาเฉลี่ยโดยประมาณ 1.5-4.0 มิลลิเมตร มีลักษณะแตกต่างกันตามแต่ละส่วนของร่างกายในด้านโครงสร้าง ความหนา และสีผิว มีโครงสร้างที่ซับซ้อนประกอบด้วย เซลล์และเนื้อเยื่อหลายชนิด และมีหน้าที่ในการป้องกันสิ่งต่างๆ เช่น เชื้อโรค สิ่งแปลกปลอม แสงอัลตราไวโอเล็ต รับความรู้สึก และกระตุ้นการหายของบาดแผล รวมถึงมีผลต่อภาวะจิตใจ ด้านภาพลักษณ์ความงาม



รูปที่ 2.2 โครงสร้างผิวหนังชั้น Epidermis

ที่มา : Skin Anatomy 101, 2013

2.2.1 โครงสร้างของผิวหนัง

โครงสร้างของผิวหนัง (Structure of skin) ผิวหนังมนุษย์แบ่งได้ 3 ชั้น ได้แก่

1) หนังกำพร้า (Epidermis)

หนังกำพร้า เป็นชั้นของผิวหนังที่ปกคลุมอยู่นอกสุดของร่างกาย มีต้นกำเนิดมาจาก Surface Ectoderm เป็นชั้นที่ให้กำเนิดโครงสร้าง ได้แก่ ขน รูขุมขน และต่อมไขมัน รวมเรียกว่า Pilosebaceous Units ต่อมเหงื่อ และเล็บ ชั้นนี้ประกอบไปด้วยเซลล์ที่มีการเจริญเติบโตและตายลอกหลุดจากร่างกายตลอดเวลา มีความหนาโดยเฉลี่ยประมาณ 0.4 ถึง 1.5 มิลลิเมตร เทียบกับความหนาทั้งหมดของผิวหนัง ความหนาของชั้นหนังกำพร้าจะแตกต่างกันไปในแต่ละบริเวณของร่างกายทำให้สามารถแบ่งผิวหนังตามความหนาของหนังกำพร้าได้เป็น 2 ชนิด คือ

1.1) ความหนาของหนังกำพร้า มี 2 ชนิด

(1) Thick Skin คือ ผิวหนังที่มีชั้นหนังกำพร้าหนา โดยเฉพาะชั้น Stratum Corneum พบบริเวณฝ่ามือฝ่าเท้า ซึ่งผิวหนังชั้นนี้จะไม่มีการลอกหลุด และต่อมไขมันจะไม่มีต่อมเหงื่อเป็นจำนวนมาก ดังนั้น บริเวณฝ่ามือฝ่าเท้าของร่างกาย จึงไม่พบว่ามีเส้นขนหรือน้ำมันจากต่อมไขมันเหมือนบริเวณอื่นของร่างกาย

(2) Thin Skin คือ ผิวหนังที่มีชั้นหนังกำพร้าบาง พบได้ทั่วร่างกาย ยกเว้น บริเวณฝ่ามือฝ่าเท้า ซึ่งผิวหนังชนิดนี้จะมี Skin Derivatives ทุกชนิด คือ รูขุมขน ต่อมไขมัน ต่อมเหงื่อ และต่อม Apocrine Sweat Gland องค์กรประกอบส่วนใหญ่ของชั้นหนังกำพร้ามากกว่า 80% คือเซลล์ที่มีชื่อว่า คีราติโนไซต์ (Keratinocytes) และเซลล์ส่วนน้อยเรียกว่า เซลล์เดนไดรต์ (Dendritic Cells) เซลล์กลุ่มนี้คือกลุ่มเซลล์ที่มีรูปร่างคล้ายกันคือมีไซโทพลาสซึม (Cytoplasm) ยื่นออกจากตัวเหมือนแขนขา เป็นเซลล์ที่เดินทางมาจากตำแหน่งอื่นแล้วมาอาศัยอยู่ที่ผิวหนังประกอบด้วยเซลล์ 3 ชนิด คือ เมลาโนไซต์ (Melanocytes) , เมอเคลเซลล์ (Merkel Cells) และ ลางเกอร์ฮันส์ (Langerhans Cells) ชั้น

1.2) เซลล์ 5 ชนิดของหนังกำพร้า

(1) คีราติโนไซต์ เป็นเซลล์ที่เป็นองค์ประกอบหลักของหนังกำพร้าภายในคีราติโนไซต์ จะพบว่ามี Keratin Intermediate Filaments อยู่ในไซโทพลาสซึมมีชื่อเรียกว่า Tonofilament ซึ่งเส้นใยเคราติน (Keratin Filaments) เป็นส่วนหนึ่งของโครงสร้าง ที่มีหน้าที่เชื่อมยึดติดระหว่างคีราติโนไซต์ แต่ละตัวให้ติดอยู่ด้วยกัน โครงสร้างนี้มีชื่อว่า เดสโมโซม (Desmosomes) เป็นเซลล์ที่มีนิวเคลียส (Nucleus) เซลล์เหล่านี้เกิดจากการแบ่งตัวของ Basal Cells ซึ่งเป็นเซลล์ที่อยู่ชั้นล่างสุดของชั้นหนังกำพร้าเมื่อเซลล์เหล่านี้เจริญเติบโตและมีพัฒนาการมากขึ้นจะเคลื่อนตัวมาขึ้นบนของผิวหนัง จะมีการเพิ่มขนาดใหญ่ขึ้นและจะแบนราบลง การเปลี่ยนแปลงของระบบเมตาบอลิซึมของเซลล์มีการสร้างโปรตีนและไขมันที่มีลักษณะเฉพาะ ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงของเยื่อหุ้มเซลล์สลายตัวนิวเคลียส และสูญเสียน้ำออกจากเซลล์ ทำให้เซลล์ไม่มีนิวเคลียส หรือ ออแกรเนล (Organelles) อื่นๆ ทำให้เกิดการลอกหลุดออกไปกลายเป็นขี้ไคล ขบวนการนี้เรียกว่า คีราติไนเซชัน (Keratinization) หากมีความผิดปกติของขบวนการนี้ก็จะทำให้เกิดโรคผิวหนังได้เช่นกลุ่มโรค Ichthyosis เป็นต้น เมื่อเซลล์มีการเปลี่ยนแปลงและเคลื่อนตัวออกมาขึ้นบนเรื่อยๆ ทำให้สามารถแบ่งหนังกำพร้าออกเป็นชั้นต่างๆ โดยแต่ละชั้นก็จะมีคีราติโนไซต์ที่อยู่ในระยะต่างๆ ของการเปลี่ยนแปลง ดังนี้ คือ

(1.1) Stratum Basale อยู่ชั้นล่างสุด ประกอบไปด้วยเซลล์ที่เรียงตัวกันชั้นเดียวมีความสามารถในการแบ่งตัวสูงและตลอดเวลาโดยมีโครงสร้างที่เรียกว่า Basal Lamina ยึดชั้นนี้ติดกับชั้นหนังแท้ (Dermis) รูปร่างเซลล์ในชั้นนี้มีลักษณะเป็นแท่ง (Columnar-Shaped) มีนิวเคลียสขนาดใหญ่ มีเส้นใยเคราตินขนาดเล็กบางจับกลุ่ม

อยู่รอบๆ นิวเคลียสและไปยึดติดกับเดสโมโซม ซึ่งเป็นตัวยึดระหว่าง Basal Cells ไว้ด้วยกัน โดย Basal Cells มีหน้าที่แบ่งตัวให้กำเนิดคิราติโนไซต์ จนกระทั่ง คิราติโนไซต์ผ่านขบวนการคิราติไนเซชันสมบูรณ์กลายเป็นคอร์นีโอไซต์ (Corneocyte) ใช้เวลาประมาณ 14 วัน และระยะเวลาที่คอร์นีโอไซต์หลุดลอกออกไปกลายเป็นขี้ไคลหมด ใช้เวลาอีกประมาณ 14 วัน เมื่อ Basal Cell แบ่งตัวให้กำเนิดคิราติโนไซต์ และเคลื่อนที่ออกมาชั้นบนกว่ากลายเป็นชั้นที่มีชื่อเรียกว่า Stratum Spinosum ต่อไป

(1.2) Stratum Spinosum ประกอบไปด้วยคิราติโนไซต์ ที่มีรูปร่างขนาดใหญ่ มีหลายเหลี่ยมคล้ายมีหนามยื่นออกมาจากผิวเซลล์ มีนิวเคลียสรูปร่างกลม ชั้นนี้ประกอบไปด้วยเซลล์เรียงตัวกันหนาประมาณ 5-10 ชั้น โดยเซลล์ที่อยู่ติดกับชั้น Basal cell มากที่สุดจะเป็นเซลล์ที่มีอายุน้อยกว่าเซลล์ที่อยู่บนขึ้นไป รูปร่างหลายเหลี่ยม และมีนิวเคลียสรูปร่างกลมส่วนเซลล์ที่อยู่บนๆ จะมีขนาดใหญ่กว่าแบนราบมากกว่า และมีการสร้างออกแกรนูลที่เรียกว่า Lamella Granules หรือ Membrane-Coating Granules (MCG) กระจายอยู่ทั่วไป ชั้นนี้จะมีขบวนการคิราติไนเซชัน อยู่บริเวณขอบของเซลล์ที่มีรูปร่างคล้ายหนามมีเส้นใยเคราตินมายึดติดกับเดสโมโซมยึดระหว่างเซลล์ไว้ด้วยกัน เซลล์ในชั้น Stratum Basale และ Stratum Spinosum รวมเรียกว่า Stratum Malpighi ซึ่งก็จะเคลื่อนตัวขึ้นไปชั้นบนกลายเป็นชั้นที่มีชื่อเรียกว่า Stratum Granulosum

(1.3) Stratum Granulosum เป็นเซลล์ที่มีรูปร่างค่อนข้างแบนภายในไซโทพลาสซึมบรรจุด้วย Basophilic Granules จำนวนมาก แกรนูลนี้มีชื่อเฉพาะว่าคิราโตไฮยาไลน์แกรนูล (Kerato-hyaline Granules) หรือแกรนูลาเซลล์ (Granular Cells) เป็นเซลล์ที่ Active Synthetic Metabolism ในชั้นนี้ แกรนูลเซลล์จะเรียงตัวกัน 3-5 ชั้น ภายในเซลล์มีคิราโตไฮยาไลน์แกรนูลจำนวนมาก ประกอบไปด้วยโปรตีนที่ชื่อ Profilaggrin Keratin Intermediate Filaments และLoricrin ซึ่งสารเหล่านี้เกี่ยวข้องกับขบวนการคิราติไนเซชัน Profilaggrin จะเริ่มสร้างในชั้นแกรนูลาเซลล์และถูกเปลี่ยนโดยขบวนการโปรติโอไลซิส (Proteolysis) คือการสลายโมเลกุลด้วยเอนไซม์ทำให้มีโมเลกุลขนาดเล็กลงเป็น Filaggrin ตรงตำแหน่งที่เซลล์จะเปลี่ยนจากแกรนูลาเซลล์ไปเป็นคอร์นีโอไซต์ และได้เป็น Filaggrin อยู่ในชั้นสตราตัมคอลลอนีียม ทำหน้าที่ยึดระหว่างเส้นใยเคราตินทำให้เกิดเป็นร่างแหของเคราตินที่แข็งแรงสมบูรณ์ Loricrin เป็นโปรตีนชนิดหนึ่งที่อยู่ในคิราโตไฮยาไลน์แกรนูลเป็นโปรตีนที่ไม่ละลายน้ำ ถูกสร้างในชั้นแกรนูลาเซลล์ และต่อไป จะกลายเป็นองค์ประกอบหลักประมาณ 75 % ของเยื่อหุ้มคอร์นีโอไซต์ ที่อยู่ติดต่อเยื่อหุ้มเซลล์ของคอร์นีโอไซต์

โอไฮด์ในชั้นสตราตัมคโลเนียมเรียกว่า Cornified Cell Envelope (CE) ทั้ง Filaggrine Keratin Filament และ Cornified Cell Envelope จะรวมเป็นโครงสร้างที่แข็งแรงของเคราติน (ซีไคล) ขณะเดียวกันลามลลาแกรนูล (Lamella Granules) ซึ่งเริ่มสร้างในชั้นสตราตัมสไปโนซั่ม เมื่อเซลล์เคลื่อนมาอยู่ตรงตำแหน่งที่จะเปลี่ยนจากแกรนูลาเซลล์ไปเป็นโคโรนีโอไฮด์ทำให้จำนวน MCG เพิ่มขึ้นและเริ่มเชื่อมต่อกับเยื่อหุ้มเซลล์ จากนั้นจะปล่อยสารที่บรรจุอยู่ภายในออกมาอยู่ระหว่างเซลล์ ซึ่งสารนี้ประกอบไปด้วย ไกลโคไลปิดสเตอรอล (Glycolipid Sterols) และฟอสโฟไลปิด (Phospholipids) มีหน้าที่เคลือบโครติโอไฮด์ เพื่อช่วยป้องกันการสูญเสียน้ำของเซลล์ทำให้เซลล์ยึดติดกันเมื่อเซลล์เคลื่อนตัวและเปลี่ยนแปลงมาจนถึงตำแหน่งรอยต่อระหว่างแกรนูลาเซลล์ จะเกิดการเปลี่ยนแปลงของโคโรนีโอไฮด์ในชั้น Stratum Corneum

(1.4) Stratum Corneum ประกอบด้วย

เซลล์ที่ชื่อว่า โคโรนีโอไฮด์ ซึ่งเปลี่ยนมาจากแกรนูลาเซลล์ ทำให้เห็นเป็นขอบเขตของเซลล์ ที่อยู่ติดๆกันคล้ายร่างแห ภายในเซลล์ไม่มีออร์แกเนล ยกเว้นที-ราตินที่สมบูรณ์แล้ว เซลล์ในชั้นนี้จะมีขนาดใหญ่ที่สุดในชั้นหนังกำพร้า มีหน้าที่ปกป้องผิวจากการกระตุ้นภายนอก ป้องกันการสูญเสียน้ำของผิวหนัง และเป็นเยื่อเลือกผ่านของยาหรือสารต่างๆ จากภายนอก ในชั้นนี้ เคสโมโซมเป็นตัวยึดระหว่างเซลล์จะเริ่มถูกทำลายทำให้แต่ละเซลล์แยกจากกัน ขบวนการนี้เรียกว่า Desquamation คือการลอกหลุดของลิพิดไคโตนไฮด์ออกไปเป็นซีไคล ถ้าหากขบวนการ Desquamation ผิดปกติก็จะทำให้เกิดโรคในกลุ่ม Ichthyosis ได้ ชั้นสตราตัมคโลเนียมนี้จะมีความหนาบางแตกต่างกันในแต่ละบริเวณของร่างกาย ผิวหนังที่จัดเป็น Thick Skin จะมีชั้นคโลเนียมหนา พบที่บริเวณฝ่ามือฝ่าเท้า โดยปกติชั้นคโลเนียมหนา ชั้นแกรนูลาเซลล์เลเยอร์ก็จะหนาตามไปด้วย ถ้าชั้นคโลเนียมหนาแต่ชั้นแกรนูลาเซลล์เลเยอร์บางถือเป็นความผิดปกติ เช่นใน Ichthyosis Vulgaris ส่วนบริเวณผิวหนังที่จัดเป็น Thin Skin จะมีชั้นคโลเนียมหนาบางชั้นแกรนูลาเซลล์เลเยอร์ก็จะบางไปด้วย บริเวณฝ่ามือฝ่าเท้าที่จัดเป็น Thick Skin นั้น จะมีชั้น Stratum Lucidum เพิ่มขึ้นมาอีก 1 ชั้น ซึ่งชั้นนี้จะไม่พบใน Thin Skin ทั่วไป

(1.5) Stratum Lucidum เป็นชั้นบางๆ

แทรกอยู่ระหว่างชั้น Granular Cell Layers และ Stratum Corneum พบเฉพาะบริเวณฝ่ามือฝ่าเท้าเท่านั้น

(2) เคนโดไดรติกเซลล์ (Dendritic cells) เป็นกลุ่มเซลล์ที่มีรูปร่างคล้ายดาว มีไซโทพลาสซึมยื่นออกไปจากตัวเป็นแขนขาในชั้นหนังกำพร้า ประกอบไปด้วยเซลล์ 3 ชนิด คือ 1) เมลาโนไซต์ (Melanocyte) เป็นเซลล์สร้างเม็ดสี, 2) เมอเคลเซลล์ (Merkel Cell) เป็นเซลล์เกี่ยวกับการรับรู้ความรู้สึก และ 3) ลางเกอร์ฮันส์ (Langerhans Cell) เป็นเซลล์เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันของผิวหนัง (Skin Immune Cell) เซลล์เคนโดไดรติกมีต้นกำเนิดมาจาก Neural Crest Cell จัดเป็นทีเดินทางมาจากที่อื่นแล้วมาอาศัยอยู่ที่ผิวหนังในชั้นหนังกำพร้า ในรูขุมขนและในหนังแท้ เมื่อมองด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดาจะเห็นเมลาโนไซต์ ในชั้นหนังกำพร้าอยู่ตรง Basal Cell Layer โดยแทรกอยู่ระหว่าง Basal Cell โดยประมาณ 10 Basal Cells จะพบเมลาโนไซต์อยู่ 1 ตัว ภายในเมลาโนไซต์มีเม็ดสี (Melanin) อยู่ในถุงหุ้มที่เรียกว่า เมลาโนโซม (Melanosome) แล้วเมลาโนไซต์จะส่งเมลานินไปให้คีราติโนไซต์ที่อยู่ชั้นบนกว่าผ่านไประหว่าง Dendritic Processes ที่แทรกอยู่ระหว่างคีราติโนไซต์ทำให้เกิดเป็นสีผิวขึ้นซึ่งจะพบว่าจำนวนของเมลานินในไซโทพลาสซึมของคีราติโนไซต์ มีปริมาณมากกว่าจำนวนเมลานินในเมลาโนไซต์ข้างเคียง

(3) เมลาโนไซต์มีรูปร่างคล้ายดาว นิวเคลียसरูปร่างกลม และมีเมลาโนโซม อยู่ภายในเซลล์เมลาโนโซมมีรูปร่างกลม มีถุงหุ้ม มีหน้าที่สร้างเมลานิน เมลาโนโซม สามารถแบ่งได้เป็น 4 ระยะขึ้นกับจำนวนเมลานิน เมลาโนโซมที่มีเมลานินต่างชนิดกันก็จะมีรูปร่างแตกต่างกัน คือ เมลาโนโซมที่สร้างเมลานินสีน้ำตาล-ดำ (Brown-Black Eumelanin) จะมีรูปร่างเป็นวงรีและ เมลาโนโซมเรียงตัวภายในเซลล์ตามยาว ส่วนเมลาโนโซมที่ผลิตเมลานิน สีเหลือง-แดง (Yellow-Red Phenomelanin) จะมีรูปร่างกลม และ เมลาโนโซมจะบรรจุในถุงเล็กๆ โดยพันธุกรรมจะเป็นตัวกำหนดขนาดของเมลาโนโซม และคนผิวดำจะมีเมลาโนโซมขนาดใหญ่กว่าคนผิวขาว Epidermal-Melanin Unit หมายถึง จำนวนเมลาโนไซต์ 1 ตัว จะส่งเมลานินไปให้ยังคีราติ-โนไซต์อยู่ข้างเคียง 36 ตัว ผ่านทาง Dendritic Processes ซึ่งจะเห็นว่าคนต่างเชื้อชาติสีผิวจะมีจำนวน Epidermal Melanin Units ในปริมาณใกล้เคียงกันส่วนจำนวนเมลาโนไซต์จะแตกต่างกันในแต่ละบริเวณของร่างกาย จะหนาแน่นมากที่สุดบริเวณอวัยวะเพศ รองลงมาคือบริเวณใบหน้าและศีรษะ ส่วนบริเวณอื่นๆ นั้น ถ้าเป็นตำแหน่งที่โดนแสงแดดเป็นประจำ จะมีจำนวนเมลาโนไซต์ มากกว่าบริเวณที่ไม่โดนแสงแดด เช่น บริเวณหลัง, ก้น, ท้อง, ด้านในของแขน เป็นต้น มีปัจจัยมากระตุ้นการเพิ่มขนาดและจำนวนเมลาโนไซต์ ได้แก่ แสงแดด, ฮอร์โมน, ตั้งครรภ์ และวิตามิน D3 ทำให้มีการสร้างเมลานินเพิ่มมากขึ้น และมีการส่งเมลานินไปยังคีราติโนไซต์เพิ่มมากขึ้น ส่งผลแสดงสีผิวเข้มขึ้น ดังนั้น สีผิวของมนุษย์จะขึ้นอยู่กับขนาด ชนิด จำนวนของเมลาโนโซม จำนวนเมลานิน ในคีราติโนไซต์ และความสามารถของเมลาโนไซต์ในการผลิตเมลานิน

สีผิวหนัง (Skin color) แบ่งออกได้เป็น 2 ชนิด คือ 1. Constitutive Skin Color คือ สีผิวที่เป็นมาตั้งแต่เกิด โดยมีพันธุกรรมเป็นตัวกำหนด และไม่มีปัจจัยอื่นมาเกี่ยวข้อง ดังเช่นสีผิวของทารกแรกเกิด และสีผิวบริเวณกัน หรือบริเวณที่ไม่ได้โดนแสงแดดในผู้ใหญ่ 2. Facultative Skin Color คือ สีผิวที่เปลี่ยนแปลงไป โดยปัจจัยภายนอกมากระตุ้น เช่น แสงแดด, ฮอร์โมน Alpha Melanocyte-Stimulating Hormone (MSH), Sex-Hormone, Inflammatory Mediators, การตั้งครรภ์, วิตามิน D3 และ Tanning Capacity ของคนแต่ละเชื้อชาติ เช่น สีผิวบริเวณลานห้วนม ห้วนม สีผิวบริเวณแขน คำนอก, หรือสีผิวบริเวณที่เคยเป็นสิ่วหายแล้วทิ้งรอยดำไว้ เป็นต้น

อิทธิพลเปลี่ยนแปลงสีผิวได้จากต่อไปนี้ คือ

- | | | |
|-------------------------|-----------------------------|-------------------------|
| 1) สีแดง | เกิดจาก Oxyhemoglobin | ในเม็ดเลือดแดง |
| 2) สีเขียวคล้ำ, น้ำเงิน | เกิดจาก Deoxyhemoglobin | ในเส้นเลือด |
| 3) สีเหลือง | เกิดจากสาร Carotene Pigment | มาสะสมที่ผิวหนังมากกว่า |

ปกติ ในคนที่กินมะละกอ หรือผู้ป่วยโรคดีซ่านจะเห็นผิวแสดงสีเหลือง

(4) เมอเคลิลเซลล์ (Merkel cell) เป็นเซลล์เดนไดรต์

ที่พบอยู่บริเวณชั้น Basal Cell Layer พบในบางบริเวณของร่างกาย ลักษณะทั่วไปคล้ายกีราติโนไซด์ มีเดสโมโซมยึดติดกับเซลล์ข้างเคียง นิวเคลียสมีรอยเว้ามาก มีลักษณะเป็นเส้นบรรจุอยู่ภายใน นิวโอพลาสซึม ส่วนในไซโทพลาสซึมจะบรรจุกลุ่มของเส้นใยรอบนิวเคลียส และขอบของเซลล์ แต่ลักษณะที่สำคัญที่สุดคือพบ Neurosecretory Granule อยู่ภายในไซโทพลาสซึม เมอเคลิลเซลล์ มีหน้าที่รับรู้ความรู้สึกสัมผัสเมื่อรับสารกระตุ้นมาจากกีราติโนไซด์แล้ว เมอเคลิลเซลล์ จะปล่อยสารพวก Cathecolamine ที่บรรจุอยู่ใน Neurosecretory Granules ออกมาซึ่งเป็นกระแสประสาทชนิดหนึ่ง เมอเคลิลเซลล์จะพบเฉพาะบริเวณที่รับสัมผัสเท่านั้น ได้แก่ บริเวณปลายนิ้ว, ริมฝีปาก, ในช่องปาก และบริเวณรูขุมขน

(5) ลางเกอร์ฮันส์ (Langerhans Cells) เป็นเซลล์

เดนไดรต์พบอยู่ในชั้น Stratum Spinosum โดยแทรกอยู่ระหว่างกีราติ-โนไซด์เป็นเซลล์ที่มีต้นกำเนิดจากไขกระดูก เซลล์นี้มีนิวเคลียสที่หยักลึกล้อมรอบด้วยไซโทพลาสซึม จะไม่พบเดสโมโซม, เมลาโนโซมและ โดโนฟีลาเมนต์ ในไซโทพลาสซึม หน้าที่ของเซลล์ชนิดนี้เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันของผิวหนัง โดยที่ผิวของเซลล์จะมี Receptors ต่างๆ เช่น CD1a, C3 receptor,

Fc receptor เป็นต้น เป็นเซลล์ที่มีบทบาทเกี่ยวกับ Allergic Contact Dermatitis และ Cell Mediate Reaction (Delayed Type Hypersensitivity) ของผิวหนัง

2) ชั้นหนังแท้ (Dermis)

ชั้นหนังแท้ เป็นชั้นที่อยู่ใต้ต่อชั้นหนังกำพร้า มีความหนาประมาณ 1-2 มิลลิเมตร แต่บริเวณเปลือกตา และ Repuce จะบางกว่านี้ ส่วนบริเวณฝ่ามือและฝ่าเท้าจะหนามากกว่านี้ตรงบริเวณที่หนังกำพร้าต่อกับหนังแท้ นั้น เป็นรอยหยักคล้ายลูกคลื่นของหนังกำพร้าที่ยื่นลงมาในหนังแท้ (Epidermal Ridges) และส่วนของหนังแท้ที่ยื่นขึ้นไปบนหนังกำพร้า (Dermal Ridges) เพื่อยึดติดกันแน่นมากขึ้น และเป็นการเพิ่มพื้นที่สัมผัสมากขึ้นทำให้เส้นเลือดในหนังแท้ไปเลี้ยงหนังกำพร้าได้มากขึ้น โครงสร้างที่เรียกว่า Rete Ridges นี้ ทำให้เกิดร่องบนผิวหนัง เห็นชัดบริเวณฝ่ามือ ฝ่าเท้าที่เรียกว่าเส้นลายมือ (Finger Print) ชั้นหนังแท้มีต้นกำเนิดจากเมโซเดิม ประกอบไปด้วยเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ระบบเส้นเลือด และเส้นประสาท เป็นที่อยู่ของ Skin Derivatives, เซลล์ Fibroblasts, เซลล์ Macrophages, Mast Cells, และเซลล์ของระบบเลือด เช่น Lymphocytes, และ Plasma Cells เป็นต้น หนังแท้มีหน้าที่ทำให้ผิวหนังมีความยืดหยุ่น ทนแรงยึดผิวหนังได้ ปกป้องร่างกายจากปัจจัยกระตุ้นภายนอก ควบคุมสมดุลความร้อนของร่างกาย และเป็นประสาทรับสัมผัสต่างๆ เนื้อเยื่อเกี่ยวพันของหนังแท้ มีองค์ประกอบหลัก คือ เนื้อเยื่อคอลลาเจน และ Elastic Tissues

2.1) แบ่งชั้นหนังแท้ ออกได้เป็น 2 ชั้น ตามความแตกต่างของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันดังนี้

2.1.1) Papillary Dermis เป็นชั้นที่อยู่ติดกับชั้นหนังกำพร้า ประกอบด้วยคอลลาเจนขนาดเล็กมีความสามารถในการแบ่งตัวอย่างรวดเร็ว เพื่อประโยชน์ในการซ่อมแซมผิวหนัง

2.2.2) Reticular Dermis เป็นชั้นที่อยู่ใต้ต่อ Papillary Dermis ประกอบด้วยคอลลาเจนที่มีขนาดใหญ่ มีเส้นเลือดจะน้อยกว่าชั้น Papillary Dermis สามารถแบ่งย่อยลงไปได้อีกเป็น 2 ชั้นคือ Upper Zone คือ Reticular Dermis ชั้นบน ประกอบด้วยคอลลาเจนขนาดกลาง ส่วนอิลาสติกไฟเบอร์เรียงตัวตามแนวนอน ชั้นนี้เป็นชั้นที่

อ่อนแอ และเหมาะต่อการเกิดโรค ส่วนชั้น Deeper Zone คือชั้น Reticular Dermis ที่อยู่ชั้นล่างสุด ติดกับ Hypodermis เป็นชั้นที่มีคอลลาเจน และอีลาสติคไฟเบอร์ขนาดใหญ่ และมี Inflammatory Cells และไฟโบรลัสจำนวนมาก

3) ชั้นไขมัน (Hypodermis)

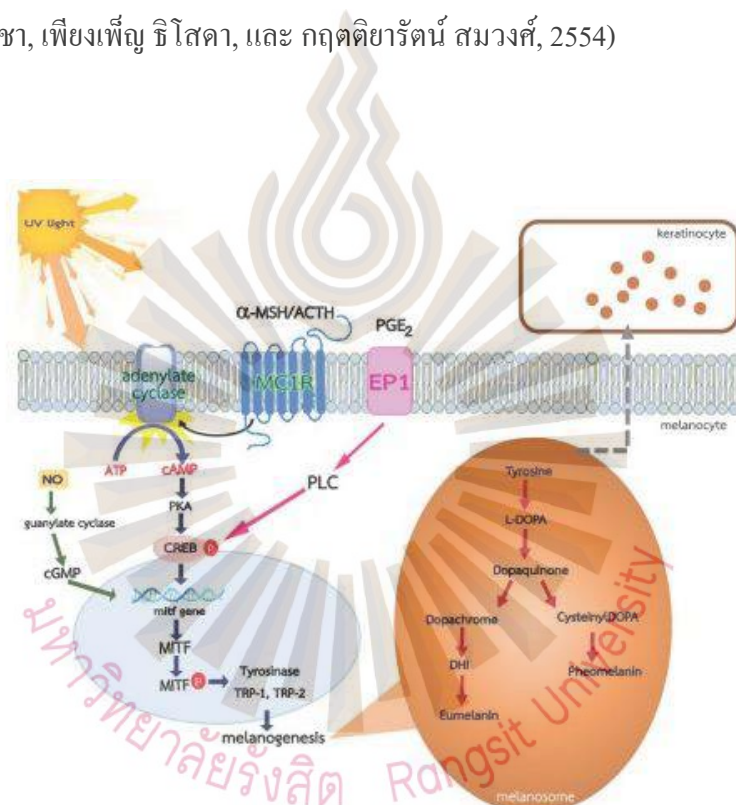
ชั้นไขมัน (Hypodermis) เป็นชั้นที่อยู่ใต้หนังแท้ประกอบไปด้วยส่วนของต่อมเหงื่อ, คอลลาเจน, อีลาสติคไฟเบอร์ ต่อเนื่องลงมาจากชั้นหนังแท้ และเซลล์ไขมัน เป็นองค์ประกอบหลักของชั้นนี้ ซึ่งเซลล์ไขมันนี้จะอยู่รวมกันเป็น Lobule ที่มีตัวแบ่งกันที่เรียกว่า Fibrous Septa ซึ่งจะมีเส้นเลือด, เส้นประสาท, หลอดน้ำเหลือง อยู่ใน Septa ความหนาของชั้นไขมันจะขึ้นกับความหนาของชั้นหนังแท้ และขึ้นกับตำแหน่งของร่างกายด้วย เช่น บริเวณหน้าท้องจะหนามาก แต่บริเวณเปลือกตาหรือองคชาตจะบางมาก หน้าที่ของชั้นนี้เพื่อให้ความอบอุ่น รักษาความร้อน และเป็นแหล่งสะสมพลังงานของร่างกาย เป็นเสมือนหมอนรองกระดูกและทำให้ผิวหนังเคลื่อนไหวได้ไม่ติดแน่นกับโครงสร้างข้างใต้ผิวหนังยังมีผลในด้านความสวยงาม เช่น บริเวณแก้ม ทำให้รูปหน้าดูสวยงาม

2.3 กระบวนการสร้างเม็ดสีผิว

2.3.1 เมลานิน (Melanin)

เมลานิน คือ เม็ดสีที่กระจายอยู่ตามผิวหนังในชั้นหนังกำพร้าโดยมีเมลานोไซต์เป็นเซลล์ที่สร้างเมลานินและส่งออกชั้นคีราติโนไซต์ไปแสดงสีผิวชั้นนอกสุดของร่างกายปัจจัยที่กระตุ้นการสร้างเม็ดสีคือแสงยูวี (ประไพพิศ อินเสน, 2561, น.69-82) กระบวนการสร้างเม็ดสีเข้มหรือยูเมลานิน (Eumelanin) เริ่มจากกรดอะมิโนไทโรซีนซึ่งเป็นสารตั้งต้น ในการผลิตเม็ดสีเมลานิน ถูกกระตุ้นโดยเอนไซม์ไทโรซิเนสเปลี่ยนเป็นโดปา (L3,4-Dihydroxyphenylalanine ,DOPA) โดยกระบวนการไฮดรอกซิเลชัน (Hydroxylation) จากนั้นเอนไซม์ไทโรซิเนสจะเปลี่ยนโดปา ให้เป็นโดปาควินิน (DOPA Quinine) ส่วนหนึ่งจะเกิดปฏิกิริยาวงแหวน (Cyclization) ซึ่งเกิดขึ้นตามธรรมชาติให้เป็นโดปาโครม (DOPA Chrome) และ DHI โดยโดปาโครมจะถูกกระบวนการ Tautomerization Catalyzed ของ Tyrosinase-Related Protein 2 ที่ชื่อ DOPA Chromtautomerase เปลี่ยนให้เป็น Dihydroxyindole-2 Carboxylic Acid (DHICA) และตามด้วยกระบวนการออกซิเดชัน (Oxidation)

ของ Tyrosinase-Related Protein1 ที่ชื่อ DHICA Oxidase ให้เป็น Indole-5,6-Quinone Carboxylic ส่วน DHI จะเปลี่ยนไปเป็น Indole-5,6-Quinone ได้เป็นเม็ดสีเข้มสำหรับการสร้างเม็ดสีเหลืองแดง หรือฟีโอเมลานิน (Pheomelanin) กระบวนการเริ่มเช่นเดียวกับการสร้างเม็ดสีเข้ม คือไทโรซินซึ่งเป็นสารตั้งต้น (Melanogenic Substrate) ในการผลิตเม็ดสีถูกกระตุ้นโดยเอ็มไซม์ไทโรซิเนสเปลี่ยนให้เป็น L-3,4-Dihydroxyphenylalanine (DOPA) โดยกระบวนการ Hydroxylation จากนั้นเอ็มไซม์ไทโรซิเนสจะเปลี่ยน DOPA ให้เป็น DOPA Quinone และถูก Cysteiny DOPA จากนั้นจะถูกเปลี่ยนให้เป็น Alanylhydroxy-Benzothiazine ได้เป็นเม็ดสีเหลืองแดงแสดงสีผิวขาวอมชมพู (ชุดินันท์ ประสิทธิ์ภูมิรักษา, เพียงเพ็ญ ธิโสดา, และ กฤตติยารัตน์ สมวงศ์, 2554)



รูปที่ 2.3 กระบวนการสร้างเม็ดสีเมลานินภายในผิวหนัง
ที่มา: ประไพพิศ อินเสน, 2561

2.3.2 เอนไซม์ไทโรซิเนสกับกระบวนการเกิดสีผิว

เอนไซม์ไทโรซิเนสเรียกอีกชื่อหนึ่งว่าเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส (Polyphenol Oxidase (PPO) เป็นเอนไซม์ในกลุ่มเมทัลโลเอนไซม์ (Metalloenzyme) คือเอนไซม์ที่มีโลหะเป็นองค์ประกอบอยู่ในโมเลกุล ทำให้เอนไซม์มีความคงตัวเอนไซม์ไทโรซิเนสมีทองแดง (Cu^{2+}) เป็นโคแฟกเตอร์ มีหน้าที่ทำงานร่วมกับออกซิเจนเพื่อทำให้เกิดปฏิกิริยาได้เร็วขึ้น เอนไซม์

ไทโรซิเนสมีบทบาทสำคัญในการควบคุมการสร้างเม็ดสีเมลานินของผิวหนัง โดยทำหน้าที่เร่งการเปลี่ยนกรดอะมิโนไทโรซีนไปเป็นสารโดปาคิวด้วยปฏิกิริยาไฮดรอกซิเลชันและเปลี่ยนโดปาคิวไปเป็นโดปาคิวโนนด้วยปฏิกิริยาออกซิเดชันจากนั้นโดปาคิวโนนจะถูกเปลี่ยนผ่านสารตัวกลางอีกหลายตัวจนเกิดโพลีเมอร์เซชันไปเป็นเม็ดสีเมลานินจนได้เม็ดสี 2 ชนิดคือชนิดสีดำหรือสีน้ำตาลเรียกว่ายูเมลานิน และชนิดสีเหลืองหรือสีส้มเรียกว่าฟีโอเมลานิน สัดส่วนของยูเมลานินและฟีโอเมลานินในแต่ละคนจะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับเชื้อชาติและพันธุกรรม รวมถึงการได้รับรังสีจากแสงแดด (พลอยขวัญ กาญจนสุรัตน์, 2557)

2.3.2 กลไกการออกฤทธิ์และสารยับยั้งการทำงานของกระบวนการสร้างเมลานิน

ตารางที่ 2.2 กลไกการออกฤทธิ์และสารยับยั้งการทำงานของกระบวนการสร้างเมลานิน

กลไกการออกฤทธิ์	สารออกฤทธิ์
กระบวนการยับยั้งการสังเคราะห์เอนไซม์ไทโรซิเนส (Inhibition Of Tyrosinase Transcription)	Resveratrol, Retinol, Retinaldehyde, Glucosamine
การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส (Tyrosinase Inhibition)	Hydroquinone, Arbutin, Azelaic Acid, kojic Acid, Ellagic Acid, Resveratrol, Oxyresveratrol, Vitamin C, Mulberoside F
การเร่งการผลิตเซลล์ผิวหนัง (Epidermis Turnover Accelerant)	Thioctic Acid, Retinoids, Lactic Acid, Glycolic Acid, Salicylic Acid, Liquiritin
การยับยั้งการส่งเมลานินโซม (Suppressing Of Melanosome Transfer)	Linoleic Acid, N-nicotinoyl Dopamine, Niacinamide, Soy Milk
การยับยั้งกระบวนการอักเสบ (Anti-Inflammatory)	Niacinamide, Soy Milk
การดักจับอนุมูลอิสระ (Free Radical Trapping Agent)	Vitamin C, Vitamin E, Tropical Steroids, Glycyrrhetic Acid

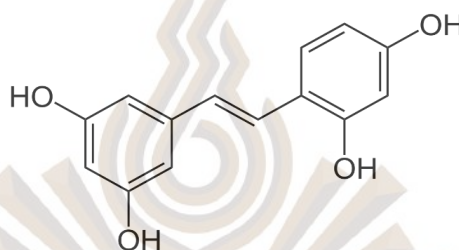
ที่มา: ประไพพิศ อินเสน, 2561

การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสสามารถยับยั้งการทำงานของ เอนไซม์ได้โดยจับกับบริเวณที่เป็น Active Site ของเอนไซม์คือส่วนที่เป็น Cu^{2+} ซึ่งจะขัดขวางการเข้าจับกันระหว่างสารตั้งต้นกับเอนไซม์ทำให้เอนไซม์ไม่สามารถทำงานได้ สารที่สามารถยับยั้งการทำงานของ

ของเอนไซม์ไทโรซิเนสได้จะเป็นสารประกอบพวก Aromatic Acid, Aromaticaldehyde, Tropolone, Kojic Acid และ Salicylic Acid โดยโครงสร้างที่มีความเป็น Hydrophobic จะสามารถยับยั้งของเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ดี (นริศ กาแก่น, 2551)

2.4 สารออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

2.4.1 ออกซีเรสเวอราทรอล (Oxyresveratrol)

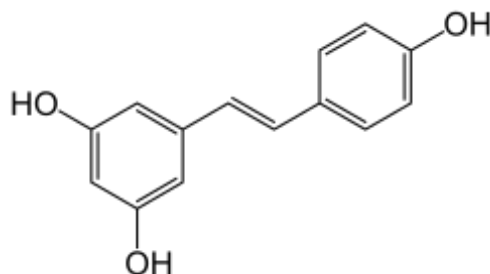


รูปที่ 2.4 แสดงโครงสร้างออกซีเรสเวอราทรอล

ที่มา: Oxyresveratrol, 2021

สารออกซีเรสเวอราทรอลจัดเป็นสารที่อยู่ในกลุ่ม สติลบินอยด์ (Stilbenoids) ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพหลายอย่างที่เป็นประโยชน์ต่อมนุษย์ มีสูตรทางเคมี คือ $C_{14}H_{12}O_4$ มีมวลโมเลกุล 244.24 กรัมต่อโมล มีลักษณะทางกายภาพเป็นผงสีเหลืองอ่อน ไวต่อแสง ละลายได้ในตัวทำละลายหลายชนิดออกซีเรสเวอราทรอล เป็นส่วนอะไกลโคน (Aglycone) ของ Mulberroside A พบได้ทั้งในรากและใบของหม่อน แต่ในรากหม่อน (374.6 ± 4.1 ไมโครกรัมต่อกรัม) จะมีปริมาณสารชนิดนี้ สูงกว่าที่พบในใบ (144.5 ± 1.6 ไมโครกรัมต่อกรัม) มีรายงานพบว่าออกซีเรสเวอราทรอลที่สกัดได้จากรากหม่อนด้วย เมทานอลเข้มข้นร้อยละ 60 โดยปริมาตร ให้ร้อยละผลผลิตของสารชนิดนี้สูงกว่าเมื่อเทียบกับการใช้ตัวทำละลายเมทานอลและเอทานอลที่ความเข้มข้นอื่น ๆ และยังมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้สูงสุด (Kim, & Uyma, 2005)

2.4.2 เรสเวอราทรอล (Resveratrol)

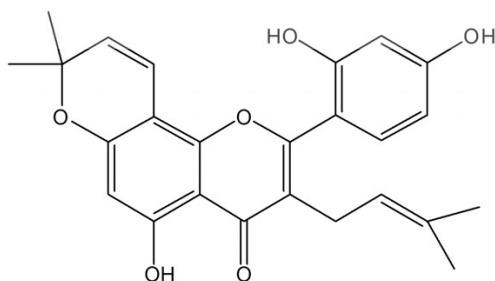


รูปที่ 2.5 แสดงโครงสร้างเรสเวอราทรอล

ที่มา: Resveratrol, 2021

เรสเวอราทรอล (Resveratrol) จัดเป็นสารที่อยู่ในกลุ่ม สติลบินอยด์ (Stilbenoids) ประเภทของฟีนอลธรรมชาติและ Phytoalexin เป็นสารที่ตอบสนองต่อการบาดเจ็บเมื่อพืชที่ได้รับเชื้อโรคเช่น เชื้อแบคทีเรียหรือเชื้อรา แหล่งที่มาของสารอาหารมาจากผิวขององุ่น, บลูเบอร์รี่, ราสเบอร์รี่, พืชตระกูลมัลเบอร์รี่และ ถั่วลิสง มีสูตรทางเคมีคือ $C_{14}H_{12}O_3$ มวลโมเลกุล 228.247 กรัมต่อโมล ลักษณะผงสีขาวที่มีสีเหลืองเล็กน้อยจุดหลอมเหลว 261 ถึง 263 องศาเซลเซียส การละลายในน้ำ 0.03 กรัมต่อลิตร การละลายใน DMSO 16 กรัมต่อลิตร ความสามารถในการละลายในเอทานอล 50 กรัมต่อลิตร

2.4.3 มอรูซิน (Morusin)



รูปที่ 2.6 แสดงโครงสร้างมอรูซิน

ที่มา: The Structure Of Morusin, 2021

มอร์ซิน (Morusin) จัดเป็นสารที่อยู่ในกลุ่มฟลาโวนอยด์ (Flavonoid) มีสูตรทางเคมีคือ $C_{25}H_{24}O_6$ มีน้ำหนักโมเลกุล 420.5 กรัมต่อโมล ผลิตจากธรรมชาติพบในพืชตระกูลเบอร์รี่ และ *Broussonetia Papyrifera* มีรายงานว่า มอร์ซินกระตุ้นการตายของเซลล์ ในเซลล์มะเร็งปอดของมนุษย์และกระตุ้นการตายของเซลล์ที่เหมือน Paraptosis ผ่านการโอเวอร์โหลดแคลเซียมในไมโทคอนเดรียและความผิดปกติในเมมเบรนไมโทไคโอไมว

2.5 อิมัลชัน (Emulsion)

อิมัลชัน (Emulsion) ประกอบด้วย ของเหลวอย่างน้อย 2 ชนิด ซึ่งไม่ละลายในกันและกัน นำมารวมกันในลักษณะที่ผสมผสานเข้าเป็นเนื้อเดียวกัน โดยใช้อิมัลซิไฟเออร์ (Emulsifier) เป็นตัวผสมผสานของเหลวทั้งสองเข้าด้วยกัน อิมัลชันที่เกิดขึ้นถ้ามองด้วยตาเปล่า จะมีลักษณะเป็นเนื้อเดียวกัน แต่ถ้ามองด้วยกล้องจุลทรรศน์ ก็จะปรากฏ 2 วัฏภาค คือเป็นหยดเล็กๆของ ของเหลวชนิดหนึ่งที่เรียกว่า วัฏภาคภายใน (Internal or Dispersed Phase) กระจายตัวแทรกอยู่ในของเหลวอีกชนิดหนึ่งที่เรียกว่า วัฏภาคภายนอก (External or Continuous Phase) โดยทั่วไป หยดของวัฏภาคภายใน อาจมีขนาดต่างๆกัน ตั้งแต่ขนาดที่เล็กกว่า 0.05 ไมครอน จนถึง 25 ไมครอน ซึ่งขนาดอนุภาคของวัฏภาคภายในมีผลต่อการกระจายแสงได้ต่างกัน จึงทำให้อิมัลชันมีลักษณะภายนอกที่มองเห็นได้แตกต่างกัน (พิมพ์ร ลิลาพรพิสิฐ, 2540)

ขนาดอนุภาคของวัฏภาคภายใน และ ลักษณะอิมัลชันที่มองเห็น

เล็กกว่า 0.05	ไมครอน	มีลักษณะโปร่งใส (Transparent)
0.05 - 0.10	ไมครอน	มีลักษณะขุ่นหรือโปร่งแสง (Translucent)
0.10 - 1.00	ไมครอน	มีลักษณะสีขาวขุ่น
ใหญ่กว่า 1.00	ไมครอน	มีลักษณะขุ่นขาวทึบ

2.5.1 การแบ่งชนิดของอิมัลชัน

1) แบ่งตามลักษณะภายนอกที่มองเห็นมี 2 ชนิด

1.1) แมโครอิมัลชัน (Macroemulsion) คือ มีลักษณะขุ่นขาวอนุภาคของวัฏภาคภายในมีขนาดตั้งแต่ 0.25 – 10 ไมครอน แบ่งย่อยได้เป็นอิมัลชันเนื้อหยาบ (Coarse

Emulsion) มีอนุภาคค่อนข้างใหญ่และอิมัลชันเนื้อละเอียด (Fine Emulsion) ซึ่งมีอนุภาคเล็กกว่า 5 ไมครอน แมคโครอิมัลชันพบมากที่สุดในอาหาร ยา และเครื่องสำอาง

1.2) ไมโครอิมัลชัน (Microemulsion) มีลักษณะโปร่งใส อนุภาคของ วัฏภาคภายในเล็กมาก ขนาดตั้งแต่ 10 – 75 นาโนเมตร (0.01 - 0.75 ไมครอน) หยดของวัฏภาคภายใน มีลักษณะกลมถูกล้อมรอบด้วยฟิล์มของตัวทำอิมัลชันมีทั้งชนิดน้ำมันในน้ำ (O/W) และ น้ำ ในน้ำมัน (W/O)

2) แบ่งตามชนิดของของเหลว ที่เป็นวัฏภาคภายใน และวัฏภาคภายนอก มี 3 ชนิด

2.1) อิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำมัน (W/O Emulsion) มีวัฏภาคภายใน เป็นน้ำ วัฏภาคภายนอกเป็นน้ำมันพบในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เช่น ครีมล้างหน้า ครีมทาตากลิ่น ครีมนวดหน้า และครีมสอร์โม่ เป็นต้น

2.2) อิมัลชัน ชนิดน้ำมันในน้ำ (O/W Emulsion) มีวัฏภาคภายในเป็นน้ำมัน วัฏภาคภายนอกเป็นน้ำ ทาแล้วกระจายดี ล้างน้ำออกง่าย เป็นที่นิยมมากในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เช่น ครีม โลชั่นทาผิว ครีมทาหน้า ครีมกันแดด และครีมรองพื้น เป็นต้น

2.3) อิมัลชันเชิงซ้อน (Multiple Emulsion) เป็นอิมัลชันที่มีวัฏภาคภายใน ซ้อนกัน เช่น W/O/W หรือ O/W/O สามารถกลับกลายเป็นอิมัลชันชนิดธรรมดาได้ เช่น W/O/W ซึ่งมีน้ำเป็นวัฏภาคภายนอก แต่วัฏภาคภายในเป็นน้ำมันจะมีหยดเล็กๆ ของหยดน้ำซ้อนอยู่ เมื่อกลับ กลายเป็นอิมัลชันธรรมดาก็จะกลายเป็นชนิด O/W พบอิมัลชันในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เช่น Cold Cream เป็นชนิด O/W/O เป็นต้น

3) แบ่งตามความหนืดของอิมัลชันมี 2 ชนิด

3.1) โลชั่น (Lotion) เป็นอิมัลชันที่มีความหนืดต่ำ (เหลว) มีวัฏภาคภายใน ปริมาณที่สูง วัฏภาคภายในมักมีไม่เกิน 35% โลชั่นอาจเป็นทั้งชนิด O/W และ W/O หรือน้ำนม (Milk or Milky lotion) เป็นรูปแบบที่พบมากที่สุดในผลิตภัณฑ์ที่ใช้ทาผิว เพราะทาแล้ว ชุ่มชื้น ไม่เหนอะหนะ ดูดี ให้ความรู้สึกสบาย และล้างออกได้ง่าย

3.2) ครีม (Cream) เป็นอิมัลชันที่มีความหนืดสูง (ลักษณะกึ่งแข็ง) เพราะมีส่วนประกอบของสารพวกไขแข็ง (Waxes) และไขมัน (Fatty Acid Or Fatty Alcohol) ซึ่งช่วยเพิ่มความหนืดและเนื้อครีมที่ผสมอยู่กับน้ำมัน (Oils) ในวัฏภาคน้ำมัน ครีมมีทั้งชนิด O/W และ W/O มีความหนืดกว่าโลชั่น เพราะมีปริมาณวัฏภาคภายในสูงกว่า คือประมาณ 35 – 75 % โดยมีการใช้สารเพิ่มเนื้อครีม (Bodying or Stiffening Agent) เช่น ไขมัน และ ไขแข็ง ครีมชนิด O/W มีการใส่สารเพิ่มความหนืด (Thickener Agent) ร่วมด้วยในตำรับเช่น Acacia, Veegum, Methylcellulose เป็นต้น

2.5.2 ส่วนประกอบของอิมัลชัน มี 3 ส่วน

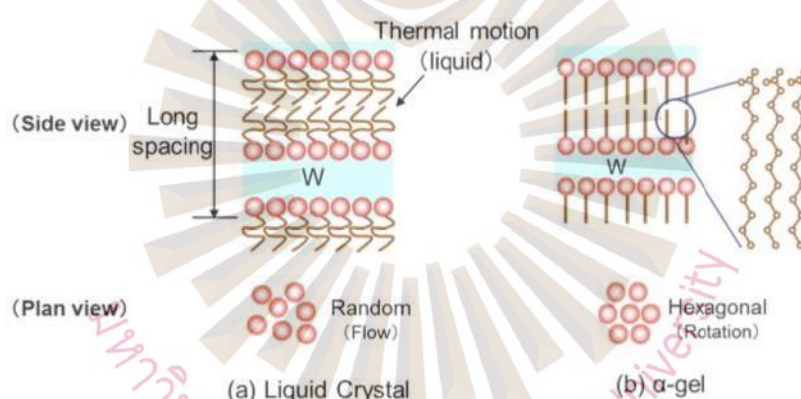
1) วัฏภาคน้ำ (Water Phase) ได้แก่ น้ำและสารต่างๆ ซึ่งอาจเป็นของแข็งหรือของเหลวที่ละลายได้ในน้ำ สารเพิ่มความหนืด เช่น Acacia, Veegum, Methylcellulose, Carbopol สาร Humactant เช่น Glycerin, Propylene Glycol หรือ Glycol สารลดแรงตึงผิว เช่น Tween, Sodium Lauryl Sulfate สีที่ละลายน้ำ สารต้านออกซิเดชัน เช่น Sodium Metabisulfite สารออกฤทธิ์อื่นที่ละลายน้ำได้ เช่น Cetyl Pyridinium Chloride, Benzalkonium Chloride สารกันเสีย เช่น Methylparaben, Sodium Benzoate เป็นต้น

2) วัฏภาคน้ำมัน (Oil Phase) ได้แก่ น้ำมันต่างๆ เช่น Olive Oil, Mineral Oil, Castor Oil ไขแข็ง เช่น Bee Wax, Paraffin Wax, Carnauba Wax ไขมัน เช่น Stearyl Alcohol, Stearic Acid, Cetyl Alcohol, Lanolin สี สารกันหืน เช่น BHT, BHA สารลดแรงตึงผิว เช่น Span, Emulgin C 1000 สารออกฤทธิ์ต่างๆ เช่น ฮอร์โมน วิตามิน ที่ละลายในน้ำมันและน้ำหอมต่างๆ เป็นต้น

3) ตัวทำอิมัลชัน (Emulsifier) เป็นตัวสำคัญในการผสมผสานให้วัฏภาคน้ำและน้ำมันเข้าเป็นเนื้อเดียวกัน ได้แก่ ของแข็งอนุภาคละเอียด เช่น Bentonite, Colloidal Magnesium สารลดแรงตึงผิว เช่น Tween, Span, Sodium Lauryl Sulfate คอลลอยด์ที่ชอบน้ำ เช่น Acacia, Gelatin Aluminium silicate เป็นต้น

2.6 แอลฟาเจล (Alpha gel)

แอลฟาเจล หมายถึงระบบอิมัลชันที่ผสมวัฏภาคน้ำและวัฏภาคน้ำมันให้เป็นเนื้อเดียวกัน ที่สร้างขึ้นจากแอมฟิฟิลิก (Amphiphilic) ในสถานะของแข็งบรรจุโครงสร้างของคอลอยด์แบบ Lamellar Bi-Layers ในรูปแบบ Hexagonal เป็นโครงสร้างพื้นฐานซึ่งมีการเรียงตัวคล้ายกับ Intercellular Lipid ในชั้นผิวหนังของมนุษย์คล้ายส่วนประกอบหลักของชั้นกักเก็บความชื้น ซึ่งเป็นชั้นของไขมันปกคลุมผิวของเรา และช่วยให้ผิวคงความชุ่มชื้นและสุขภาพผิวที่ดี ในชั้นผิวหนังมีส่วนประกอบของชั้นไขมัน (Intercellular Lipid) ที่เรียกว่าเซราไมด์ (Ceramide) มีโครงสร้างแบบลามลลาเจล (lamellar Gel) ประกอบด้วยคลอเลสเตอรอล กรดไขมัน และน้ำ ลามลลาเจลเป็นส่วนผสมที่มีความหนา ไม่ไหลง่าย และสามารถกักเก็บน้ำได้ปริมาณมากเหมือนเซราไมด์ธรรมชาติจึงเป็นปัจจัยสำคัญในการกักเก็บน้ำในผิว ระบบลามลลาเจลชนิดนี้เรียกว่า แอลฟาเจล



รูปที่ 2.7 (b) แสดงโครงสร้างของระบบแอลฟาเจล

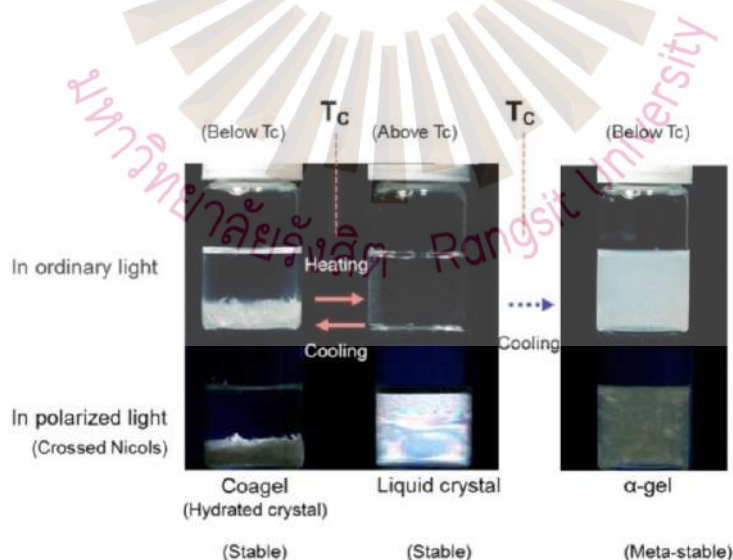
ที่มา: Suzuki, 2017

2.6.1 การศึกษาโครงสร้างผลึกของแอลฟาเจลโดยเทคนิค WAXS (Wide Angle X-ray Scattering)

การศึกษาโครงสร้างผลึกของแอลฟาเจล ได้โดยเทคนิค WAXS (Wide Angle X-ray Scattering) ได้ค่ากระเจิงแสงประมาณ 4.2 อังสตรอม (Å) มีค่า d-spacing สามารถวัดความยาวได้โดยเทคนิค SAXS และมีขนาดตั้งแต่ 6 นาโนเมตรถึง 60 นาโนเมตรขึ้นอยู่กับชนิดของแอมฟิฟิลิก, ความเข้มข้น และลักษณะทางเคมีของน้ำ

2.6.2 การเตรียมแอลฟาเจล

การเตรียมแอลฟาเจล ดำเนินการโดยให้ความร้อนกับส่วนผสมของสารลดแรงตึงผิวและน้ำ ที่เหนือกว่าอุณหภูมิ T_c (ประมาณ 53 องศาเซลเซียส) เพื่อสร้างผลึกเหลว และลดอุณหภูมิให้เย็นลงต่ำกว่า T_c จะปรากฏแอลฟาเจล ดังรูปที่ 6 เป็นการแสดงระบบทางเทอร์โมไดนามิกกึ่งเสถียร (Thermodynamically Metastable) ที่เปลี่ยนโคเจล โดยให้ความร้อนเหนือ T_c เป็นผลึกเหลวซึ่งมีเฟสโปร่งใส มีความหนืดเล็กน้อย แต่คงไว้ซึ่งขนาดใหญ่ของปริมาณน้ำภายในส่วนที่ชอบน้ำ และแสดงแสงแอนไอโซโทรปี ในการเปลี่ยนผ่านของโคเจลไปเป็นผลึกเหลว จะได้ Peak ของการดูดความร้อนที่เกิดจากการหลอมสายโซ่ที่ไม่ชอบน้ำ ตรวจพบได้จากการวัดค่าความร้อนจากการ Differential Scanning Calorimetry (DSC) ในการเปลี่ยนผลึกโคเจลเป็นผลึกเหลวที่สามารถย้อนกลับได้ และน้ำที่กักอยู่ในผลึกเหลวจะถูกปล่อยออกมาที่อุณหภูมิต่ำกว่า T_c เพื่อแยกออกเป็นสองเฟสของผลึกไฮเดรตและน้ำ ในทางกลับกัน สถานะเจลโปร่งแสงอาจยังคงอยู่โดยไม่ปล่อยน้ำระหว่างชั้นเมื่ออุณหภูมิเย็นลงต่ำกว่า T_c สถานะนี้เรียกว่า แอลฟาเจล ที่มีลักษณะทึบแสง ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่าสถานะของเจลขึ้นอยู่กับสภาพการเก็บรักษา การก่อตัวและโครงสร้างของผลึกเหลวที่เกี่ยวข้องกับความสมดุลของสัดส่วนระหว่างส่วนที่ชอบน้ำกับส่วนที่ชอบน้ำมัน (Hydrophile-Lipophile Balance, HLB) และความเข้มข้นของโมเลกุล แอมฟิฟิลิก (Suzuki, 2017)

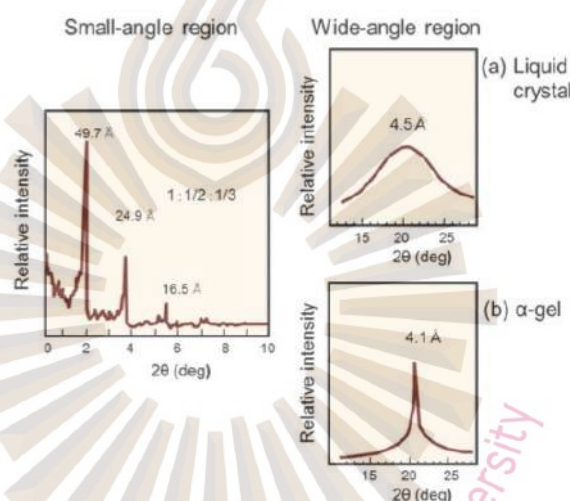


รูปที่ 2.9 แสดงลักษณะของสารลดแรงตึงผิว / ระบบน้ำที่สังเกตได้ที่อุณหภูมิสูงกว่าและต่ำกว่า T_c รูปบนเป็นลักษณะที่สังเกตได้ในสถานะแสงปกติ / รูปล่างเป็นลักษณะที่สังเกตได้ภายใต้แสงโพลาไรซ์

ที่มา: Suzuki, 2017

2.6.3 การพิสูจน์เอกลักษณ์แอลฟาเจล

แอลฟาเจล ที่ประกอบไปด้วยโมเลกุลของ Fatty Alcohol ที่มีอะตอมของคาร์บอนมากกว่า 16 อะตอมและสารลดแรงตึงผิวประจุลบ (Anionic Surfactant) ในอัตราส่วนโมลาร์ 3 : 1 เมื่อนำไปศึกษาโครงสร้างผลึกของแอลฟาเจล (WAXS) พบ Peak ที่ 2 องศา = 21.5 นาโนเมตร ($d=4.1$ อังสตรอม) ในการศึกษารูปร่างด้วยเทคนิค Small Angle X-ray Scattering (SAXS) ของแอลฟาเจลพบว่าสารที่ไม่ชอบน้ำในสถานะของแข็งถูกจัดเรียงแบบหกเหลี่ยม (Hexagonal) มีการกักเก็บน้ำปริมาณมากในส่วนของผลึกที่เป็นชั้น ๆ ดังภาพที่ 2.9 (Suzuki, 201)



รูปที่ 2.10 แสดง Wide Angle X-ray Scattering (WAXS) และ Small Angle X-ray Scattering (SAXS) ของผลึกเหลว และแอลฟาเจล ที่มา: Suzuki, 2017

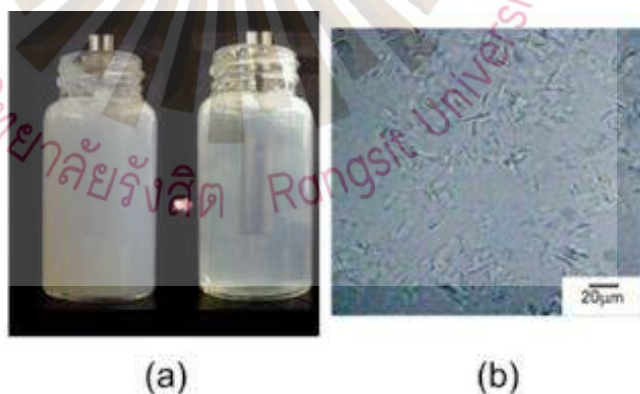
2.6.4 ปัจจัยที่ส่งผลต่อความคงตัวของแอลฟาเจล

ปัจจัยที่ส่งผลต่อความคงตัวของแอลฟาเจลสามารถคือความยาวโซ่อัลคิล แขนงของโซ่ และ ขนาดหัวของสารลดแรงตึงผิว จากการศึกษาพฤติกรรมเฟส Alkyl Chain Length ของ Fatty Alcohol มีการกระจายความยาวของโซ่อัลคิลประกอบด้วย Cetearyl Alcohol ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{OH}$) และ Stearyl Alcohol ($\text{C}_{18}\text{H}_{38}\text{O}$) ซึ่งนำมาใช้ในสูตรโครงสร้างลามิลาเจลเฟสเปรียบเทียบกับสารบริสุทธิ์ Cetearyl Alcohol ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{OH}$) หรือ Stearyl Alcohol ($\text{C}_{18}\text{H}_{38}\text{O}$) โดย Cetearyl Alcohol

$(\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{OH})$ มีส่วนช่วยสร้างเสถียรภาพค่อนข้างมาก เชื่อกันว่าเนื่องจากความยาวโซ่อัลคิลที่ไม่ตรงกันทำให้ปลายโซ่อัลคิลของ Stearyl Alcohol ($\text{C}_{18}\text{H}_{38}\text{O}$) มีความเป็นอิสระสูง จึงเกิด Gauche Coordination เพิ่มขึ้น เนื่องจากความผิดปกติเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับค่าทราเนสทั้งหมด การก่อตัว Orthorhombic (B) Crystal หรือ Monoclinic (y) Crystal จึงถูกขัดขวางและโครงสร้าง Hexagonal Crystal สามารถอยู่รอดได้ทำให้เกิดโครงสร้างแอลฟาเจล (Iwata, 2017)

2.6.5 กระจายตัวของแอลฟาเจล

แอลฟาเจลเป็นซอโฟเจลกึ่งแข็งยังคงไว้ซึ่งน้ำปริมาณมากภายในส่วนที่ชอบน้ำ และแสดงให้เห็นการไหลแบบ Pseudo-Plastic มีคุณสมบัติ Rheological Property ในชั้นโครงสร้าง เนื่องจากแสดงความสามารถในการแพร่กระจายได้ดีเยี่ยมด้วยเนื้อสัมผัสที่แตกต่างจากอิมัลชันทั่วไป แอลฟาเจล หรือระบบสองเฟสของแอลฟาเจลและน้ำ ซึ่งเกิดขึ้นจาก R16MP-Arg เป็นส่วนประกอบหลัก เปลี่ยนเป็นซอโฟเจลโดย Sonication ที่ 20 kHz เป็นเวลาประมาณ 7-8 นาที การเปลี่ยนแปลงในลักษณะนั้นปรากฏเส้นโค้งการกระจายขนาดอนุภาคที่วัดโดยการกระเจิงด้วย Rayleigh Scattering ดังแสดงในรูปที่ 2.11 เกิดลักษณะโปร่งแสงสีน้ำเงินของโซล (Sol) หรือเจล (Gel) ที่โครงสร้างคอลลอยด์ของแอลฟาเจล

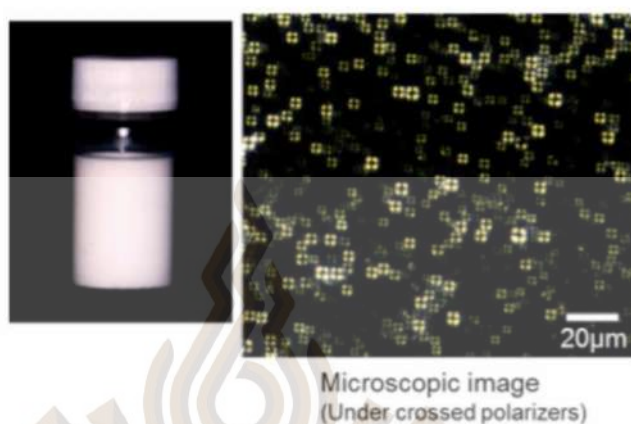


รูปที่ 2.11 แสดงลักษณะโปร่งแสงสีน้ำเงินของโซล (sol) หรือเจล (Gel) ที่โครงสร้างคอลลอยด์ของแอลฟาเจล (a.การเปลี่ยนแปลงหลัง Sonication, b. สังเกตด้วยกล้องจุลทรรศน์)

ที่มา: Suzuki, 2017

การกระจายตัวของอนุภาคโดยการสังเกตด้วยกล้องจุลทรรศน์ (Optical Microscopic) แสดงในภาพที่ 2.11 ขนาดอนุภาคเฉลี่ยทันทีหลังจาก Sonication ประมาณ 112 นาโนเมตร แม้ว่า

เส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยจะเพิ่มขึ้นเป็นถึง 230 นาโนเมตร หลังจากเวลาผ่านไป 1 ชั่วโมง แต่ระบบแอลฟาเจลยังคงรักษาภาพโปร่งแสงหรือสถานะเจลไว้ไม่เปลี่ยนแปลงมากกว่าสองปี (Suzuki, 2017)



รูปที่ 2.12 แสดงลักษณะอิมัลชันที่ปรากฏภายใต้ Polarizing Photomicrograph
ที่มา: Suzuki, 2017

จากรูปที่ 2.12 แสดงลักษณะอิมัลชันที่ปรากฏภายใต้ Polarizing Photomicrograph ของอิมัลชันที่อุดมไปด้วยหยดอิมัลชันแต่ละหยดแสดงพื้นผิวออปติคัลของ Maltese Cross จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน Cryo-CEM แสดงอิมัลชันเป็น Multilamellar ซึ่งแต่ละหยดมีโครงสร้าง Lamellar Structure เคลือบอยู่ อิมัลชัน Multilamellar มีความแข็งแรงสามารถกักเก็บน้ำได้มากทำให้ผิวเกิดความชุ่มชื้นได้อย่างดีเยี่ยม (Suzuki, 2017)

2.7 หลักการโครมาโทกราฟี (Chromatography)

2.7.1 หลักการพื้นฐานของวิธีทีแอลซี (TLC)

วิธีการโครมาโทกราฟี (Chromatography) เป็นวิธีการแยกสารผสมโดยอาศัย 2 วัฏภาคคือ วัฏภาคเคลื่อนที่ (Mobile Phase) และวัฏภาคคงที่ (Stationary Phase) ซึ่งมีคุณสมบัติต่างกันและคุณสมบัติที่สำคัญคือความมีขั้ว (Polarity) สารใดในสารผสมมีขั้วคล้ายกับวัฏภาคคงที่ก็จะอยู่กับวัฏภาคคงที่ได้มากกว่า สารใดจะเคลื่อนที่ไปได้มาน้อยเพียงใดจะขึ้นอยู่กับ การดูดซับที่ผิวของวัฏภาคคงที่ (Adsorption) การดูดซึมเข้าไปในช่องว่างของวัฏภาคคงที่ (Absorption)

การกระจายตัว (Partition) เข้าไปในของเหลวที่เคลื่อนอยู่ที่ผิวของวัฏภาคคงที่หรืออยู่ในช่องว่างของ Partition ซึ่งขึ้นอยู่กับคุณสมบัติในการละลายของสารและการสร้างพันธะกับวัฏภาคคงที่ วิธีโครมาโทกราฟีที่นิยมใช้ได้แก่ วิธีทีแอลซีหรือโครมาโทกราฟีแบบชั้นบาง (Thin – Layer Chromatography), โครมาโทกราฟีแบบแผ่นกระดาษ (Paper Chromatography , PC), โครมาโทกราฟีแบบแก๊ส (Gas Chromatography , GC) โครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) และ โครมาโทกราฟีแบบผิวบางสมรรถนะสูง (High Performance Thin Layer Chromatography, HPTLC)

2.7.2 การประยุกต์ใช้วิธีทีแอลซี

1) วัตถุดิบ ผลิตภัณฑ์ยา และผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร ใช้ในการพิสูจน์แยกเอกลักษณ์ ตรวจสอบความบริสุทธิ์ วิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญของวัตถุดิบและผลิตภัณฑ์วิเคราะห์หาสารกันเสีย (Preservatives) วิเคราะห์การปนเปื้อน วิเคราะห์ระหว่างกระบวนการผลิตและผลิตภัณฑ์สำเร็จรูป และวิเคราะห์การปลอมปน วิธีทีแอลซีเป็นวิธีหนึ่งที่ทางเภสัชตำรับหลายประเทศกำหนดให้เป็นวิธีในการวิเคราะห์เชิงคุณภาพ และปริมาณ ซึ่งปัจจุบันวิธีทีแอลซีมีการพัฒนาดีขึ้นทั้งวัฏภาคคงที่ วัฏภาคเคลื่อนที่ ตัวตรวจสอบ วิธีการหยดสารโดยใช้เครื่องมืออัตโนมัติ และกึ่งอัตโนมัติและวิธีการหาปริมาณสารโดยใช้วิธี Densitometry

2) ด้านเคมีคลินิก (Clinical chemistry) และนิติเคมี (Forensic chemistry) ตัวอย่างเช่น การหาปริมาณสารสำคัญในเมแทบอลิต์ (Metabolites) และศึกษาความผิดปกติของสารเมแทบอลิต์ เป็นต้น

3) อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง (Cosmetology) ใช้ในการวิเคราะห์วัตถุดิบและผลิตภัณฑ์สำเร็จรูป สารกันเสีย สารลดแรงตึงผิว (Surfactant) และสารประกอบในน้ำหอม

4) การวิเคราะห์ทางอาหาร (Food analysis) ใช้ในการตรวจสอบการปนเปื้อนยาฆ่าแมลงตกค้างในผักและเนื้อ วิตามินในเครื่องดื่มและมาการีน สารปรุงแต่งต้องห้ามและสารอะฟลาทอกซินในนมและผลิตภัณฑ์นม

5) การวิเคราะห์สิ่งแวดล้อม (Environment Analysis) ใช้ในการวิเคราะห์น้ำใต้ดิน สารก่อมลพิษใต้ดินและเหนือดิน สารสลายจากสีย้อม (Azodye) ที่ใช้ในอุตสาหกรรม

2.7.3 โครมาโตกราฟีแบบผิวบางสมรรถนะสูง (High Performance Thin Layer Chromatography, HPTLC)

High Performance TLC (HPTLC) จัดเป็นเครื่องมือที่มีประสิทธิภาพ ซึ่งอาศัยการเคลื่อนที่บนชั้นของตัวดูดซับที่ประกอบด้วยอนุภาคขนาดเล็กกว่าซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 5 ไมโครเมตร ขณะที่ TLC ธรรมดาทั่วไป มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 12-20 ไมโครเมตร แนวในการเคลื่อนที่ของอนุภาคใน HPTLC จะมีลักษณะที่แคบกว่า นอกจากนั้นชั้นของตัวดูดซับบางกว่า และระยะทางในการเคลื่อนที่ของตัวอย่างที่ถูกวิเคราะห์ก็สั้นกว่าด้วย จึงทำให้มีประสิทธิภาพในการแยกเพิ่มขึ้น และเร็วมากขึ้น โดยสารที่แยกออกมาแต่ละชนิดบนแผ่น TLC จะผ่านเข้าสู่อุปกรณ์ตรวจวัดสัญญาณด้วยตัวตรวจวัด (Densitometer Detector) ซึ่งสัญญาณที่บันทึกได้จะแปลผลออกมาเป็น โครมาโตแกรม (Chromatogram) มีลักษณะเป็นพิก (Peak) ในการวิเคราะห์ผลจะนำพื้นที่ใต้พิกของแต่ละสารมาคำนวณผลเปรียบเทียบกับกราฟของสารมาตรฐาน (Calibration Curve) ก็จะทราบปริมาณของสารตัวอย่าง เครื่อง HPTLC สามารถวิเคราะห์สารได้ทั้งเชิงคุณภาพ (Qualitative Analysis) และปริมาณ (Quantitative Analysis) นิยมใช้วิเคราะห์สารประกอบที่ไม่มีความซับซ้อนมาก แต่มีข้อดีกว่าโครมาโตกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) ตรงที่ใช้ระยะเวลาในการวิเคราะห์น้อยกว่า อัตราการสิ้นเปลืองตัวทำละลายอินทรีย์น้อยกว่า โดยสามารถใช้กับงานด้านต่างๆ เช่น วิเคราะห์หาปริมาณวิตามิน กรดอะมิโน น้ำตาล สารกระตุ้น ยาปฏิชีวนะ ยาฆ่าแมลง

2.8 การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (Validation Method)

เป็นกระบวนการยืนยันความถูกต้องของวิธีการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการโดยการตรวจสอบและจัดทำหลักฐานที่เป็นรูปธรรมเพื่อแสดงว่าข้อกำหนดพิเศษต่างๆสำหรับการใช้ตามที่ตั้งใจไว้โดยเฉพาะสามารถบรรลุผลได้ครบถ้วนเป็นไปตามข้อกำหนด

2.8.1 ช่วงการใช้งาน (Range)

เป็นช่วงการใช้งานที่ครอบคลุมระดับความเข้มข้นของสารที่ต้องการศึกษา (Lower และ Upper level) โดยสามารถแสดงระดับของความเที่ยงตรง, ความแม่นยำและความสัมพันธ์เชิงเส้น ตามที่กำหนดไว้ในวิธีทดสอบ

2.8.2 ความสัมพันธ์เชิงเส้น (Linearity)

ความสามารถของวิธีทดสอบที่ให้ค่าสัญญาณของเครื่องมือที่แปรสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของสารที่ต้องการศึกษาแบ่งเป็น System Linearity หมายถึง การทดสอบโดยใช้สารมาตรฐานวัดค่าโดยจะแสดงผลทดสอบเป็นสัดส่วนกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน Method Linearity หมายถึง การทดสอบโดยใช้ตัวอย่างที่เดิมสารมาตรฐาน (Spike sample) โดยจะแสดงความสามารถของวิธีทดสอบที่ให้ผลเป็นสัดส่วนกับความเข้มข้นของสารที่มีอยู่จริงในตัวอย่าง

2.8.3 ค่าความแม่นยำ (Precision)

การวัดซ้ำหลายๆ ครั้ง และดูค่าที่ได้ใกล้เคียงกันหรือไม่ ซึ่งการวัดค่าที่ได้ใกล้เคียงกันไม่ได้หมายความว่าค่าที่วัดได้จะเป็นค่าที่ถูกต้องเสมอไป แบ่งเป็น Repeatability หมายถึง การทดสอบซ้ำๆ ภายใต้สภาวะคงที่ ซึ่งการทดสอบจะต้องทำภายในห้องปฏิบัติการเดียวกัน ตัวอย่างเดียวกัน สภาวะแวดล้อมเดียวกัน ผู้ทดสอบคนเดียวกัน และภายใต้เวลาใกล้เคียงกัน Reproducibility หมายถึง การทดสอบซ้ำซึ่งอาจมีความแตกต่างกันดังนี้

2.8.3.1 Intra-Lab Reproducibility หมายถึง การทดสอบซ้ำโดยอาจขยายเวลาในการทดสอบมากขึ้น มีการเปลี่ยนแปลงเจ้าหน้าที่ทดสอบ เปลี่ยนแปลงเครื่องมือ วันที่ทำการทดสอบต่างกันแต่ห้องปฏิบัติการที่ใช้ทดสอบเป็นห้องปฏิบัติการเดียวกัน

2.8.3.2 Inter-Lab Reproducibility หมายถึง การทดสอบซ้ำโดยดูค่าความแปรปรวนที่มีผลต่อความแม่นยำของวิธีเมื่อมีการเปลี่ยนผู้ทดสอบ เปลี่ยนเครื่องมือ แต่ไม่ได้ทำการทดสอบโดยห้องปฏิบัติการเดียวกัน

2.8.4 ค่าความถูกต้อง (Accuracy)

ค่าที่ได้จากการวัดมีค่าใกล้เคียงกับค่าจริงมากน้อยเพียงใดโดยทั่วไปจะมีความสัมพันธ์กับค่าความเบี่ยงเบนคือจะแปรผกผันกับค่าความเบี่ยงเบน

2.8.5 ค่าการคืนกลับ (Recovery)

การเติมความเข้มข้นที่เหมาะสมอย่างน้อย 3 ความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่รู้ค่าแน่นอนลงไปในตัวอย่างไม่แล้ววิเคราะห์หาปริมาณเพื่อดูค่าคืนกลับของสารมาตรฐานนั้น

2.8.6 ลิมิต ออฟ ดีเทคชัน (Limit of detection (LOD))

ความเข้มข้นต่ำสุดที่เครื่องสามารถตรวจพบได้โดยทั่วไปจะเป็นระดับความเข้มข้นของสารที่ใหญ่สัญญาณเป็น 3 เท่า ของ Blank เหนือค่าเฉลี่ยสัญญาณของ Blank

2.8.7 ลิมิต ออฟ ควอนติเตชัน (Limited of quantitation (LOQ))

ความเข้มข้นต่ำสุดที่เครื่องสามารถตรวจสอบและอ่านค่าได้อย่างถูกต้องแม่นยำสามารถรายงานค่าได้โดยทั่วไปจะเป็นระดับความเข้มข้นของสารที่ให้สัญญาณเป็น 10 เท่า ของ Blank เหนือค่าเฉลี่ยของสัญญาณ Blank

บทที่ 3

ระเบียบวิธีการวิจัย

3.1 ขอบเขตวิธีดำเนินการวิจัย

พัฒนาครีมจากสารสกัดรากหม่อนในรูปแบบแอลฟาเจลและศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของครีมจากสารสกัดรากหม่อนในรูปแบบแอลฟาเจล

3.2 เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

ตารางที่ 3.1 แสดงอุปกรณ์ เครื่องมือ และสารเคมีที่ใช้ในการวิจัย

อุปกรณ์และเครื่องมือ	สารเคมี
1. Hot plate	1. Cetyl alcohol (Namsiang, Thailand)
2. Water bath	2. Stearyl alcohol (Namsiang, Thailand)
3. Beaker	3. Purephose Alpha (Namsiang, Thailand)
4. Stirring rod	4. Squalene (Namsiang, Thailand)
5. Dropper	5. Shea butter (Krungthepchemi, Thailand)
6. Cylinder	6. Cocoa butter (Chemipan, Thailand)
7. Thermometer	7. Liquid paraffin (Krungthepchemi, Thailand)
8. ช้อนเข	8. Lanolin (PEG-75) (Krungthepchemi, Thailand),
9. กระจกชั่ง	9. Coconut wax (Chemipan, Thailand)
10. เครื่องชั่ง (electronic analytical balance)	10. Arginine (Namsiang, Thailand)
11. ขวดแก้วสำหรับบรรจุครีม	11. Glycerin (Krungthepchemi, Thailand)
12. Universal Indicator pH 1-11 (Carlo Erba)	

ตารางที่ 3.1 แสดงอุปกรณ์ เครื่องมือ และสารเคมีที่ใช้ในการวิจัย (ต่อ)

อุปกรณ์และเครื่องมือ	สารเคมี
13. เครื่องวัดความหนืด Brookfield viscometer VISCO STAR PLUS (Fungilab, New York)	12. 1,3-Butylene glycol (Krungthepchemi, Thailand)
14. UV Detector	13. Xantan Gum (Namsiang, Thailand)
15. ตู้อบ Percision environmental	14. Ion-exchanged water
16. ตู้เย็น	15. DMDM (Namsiang, Thailand)
17. เครื่อง Sprey dryer	16. 95% ethanol (technical grade)
18. Homoginizer (IKA Switzerland)	17. Ethyl acetate (Labscan Thailand)
19. Microscope OLYMPUS cellSens Dimension 2.1 Build 17342 (Hewlett-Packard USA)	18. Dichloromethane (Labscan Thailand)
20. HPTLC plate (Merck Germany)	19. Formic acid (Labscan Thailand)
21. Linomat 5 (Gamag Switzerland)	20. Methanol (Labscan Thailand)
24. densitometer (Gamag Switzerland)	
25. TLC	

3.3 วิธีดำเนินงานวิจัย

3.3.1 การเตรียมสารสกัดรากหม่อน

จัดหาวัตถุดิบรากหม่อน (*Morus alba* Linn.) อายุ 2 ปี จากจังหวัดเพชรบุรี (111/27 ม.2 ตำบลบ้านกุ่ม อำเภอมะขาม จังหวัดเพชรบุรี) นำรากหม่อนล้างน้ำให้สะอาด นำมาหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ อบในตู้อบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำมาบดด้วยเครื่องบดสมุนไพร จากนั้นนำรากหม่อน 160 กรัม สกัดสารสำคัญด้วยวิธีการหมัก (Maceration) ด้วยเอทานอลปริมาณ 1.5 ลิตร โดยเทใส่โหลแก้วปิดปากโหลให้สนิท เป็นเวลา 7 วัน ทำซ้ำ 3 รอบ กรองสารละลายเอทานอลผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 แยกส่วนกากออก (Residue) นำสารละลายที่ได้จากการกรองมาระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยตัวทำละลาย (Rotary Evaporator) จะได้สารสกัดหยาบจากเอทานอลของรากหม่อน

3.3.2 การแยกองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบด้วยเทคนิคแรงขับเคลื่อน

3.3.2.1 การศึกษา HPTLC ของสารสกัดเปลือกกรากหม่อน

ทำการตรวจสอบโดยการฉีดสารมาตรฐาน Morucin ลงบนเพลท TLC เปรียบเทียบกับสารสกัดหม่อนตรวจสอบสารสำคัญภายใต้เครื่อง Densitometer โดยมีสถานะการทดลองดังนี้

Chromatographic conditions

Stationary phase	: TLC precoated, silica gel G60, F ₂₅₄ (Merck)
Mobile phase	: Dichloromethane : Methanol (9 : 1 v/v)
Applicator	: Linomat 5 (CAMAG, Switzerland)
Saturation time	: 30 minutes
Detection	: 254 nm (Scanner 3, CAMAG, Switzerland)

3.3.2.2 การวิเคราะห์ตัวอย่างสารสกัดกรากหม่อนด้วย HPTLC

1) การเตรียมสารละลายตัวอย่างกรากหม่อน (Preparation of Sample solution) : ชั่งผงกรากหม่อน 1.5 กรัมใส่ลงใน Volumetric Flask 100 มิลลิลิตร เติม Methanol 50 มิลลิลิตร แล้วนำมาสกัดด้วย Ultrasonic Bath และทำการ Sonicate เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นรินสารละลายเก็บไว้และเติม Methanol อีก 50 มิลลิลิตรลงใน Flask ที่มีผงยาเหลืออยู่ แล้วนำมาสกัดด้วย Ultrasonic Bath และทำการ Sonicate เป็นเวลา 15 นาที รินสารละลายเก็บรวมกันไว้ ทำต่อเนื่องไปจนสกัดสารได้หมดจด ซึ่งจะติดตามผลการสกัดโดยใช้ TLC นำสารละลายที่ได้มาระเหยเอาตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่อง Rotary Evaporator สารสกัดที่ได้จะนำมาชั่งหาน้ำหนัก แล้วละลายด้วย Methanol ใส่ลงใน Volumetric Flask 25 มิลลิลิตรและปรับปริมาตร จากนั้น pipette สารละลายมา 1.0 มิลลิลิตร ใส่ลงใน Volumetric Flask 10 มิลลิลิตรและปรับปริมาตรด้วย Methanol

2) เตรียมสารสกัดของกรากหม่อนแล้ว Spot บนแผ่น TLC (Silica gel 60 F₂₅₄, Merck) ขนาด 10 x 20 ด้วยเครื่อง Linomat 5 (Camag, Switzerland) โดยมีแถบความยาวของ Band เท่ากับ 8 มิลลิเมตร โดยมีสาร Morucin เป็น Marker แผ่น TLC จะถูกนำมา Develop ใน Twin Trough Glass Chamber (Camag Switzerland) โดยใช้ระบบตัวทำละลาย (Solvent System)

เป็น Dichloromethane : Methanol (9 : 1 v/v) โดยมีระยะของ Solvent Front เท่ากับ 8 เซนติเมตร หลังจากตัวทำละลายระเหยออกจากแผ่น TLC หมดแล้ว แผ่น TLC จะถูกนำมาบันทึกภาพ Chromatographic Fingerprints ภายใต้แสง UV ที่ 254 นาโนเมตร หลังจากนั้นจะทำการ Scan แต่ละตัวอย่างด้วยเครื่อง Densitometer (Camag TLC Scanner 3, Switzerland) ที่ 254 นาโนเมตร

3.3.2.3 การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์

1) การ Validate วิธีวิเคราะห์สาร Morucin

1.1) การเตรียมสารละลายมาตรฐาน (Preparation of Standard Solution) : ชั่งสาร Morucin 1.5 มิลลิกรัมใส่ลงใน Volumetric Flask 25 มิลลิลิตร ละลายและปรับปริมาตรด้วย Methanol

1.2) Linearity ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างพื้นที่ใต้ Peak กับความเข้มข้นของสารมาตรฐาน ทำโดยการ Spot สารมาตรฐานบนแผ่น TLC 1, 2, 3, 4, และ 5 μL ให้ได้ความเข้มข้นเท่ากับ 60, 120, 180, 240, และ 300 $\mu\text{g/spot}$ จากนั้นนำไปแช่ใน TLC Twin-Trough Glass Chamber ที่มี Dichloromethane : Methanol (90 : 10) เป็น Mobile Phase ให้มีระยะทางเคลื่อนที่ของตัวทำละลายเท่ากับ 8 เซนติเมตร จากนั้นนำแผ่น TLC มาเป่าให้แห้ง และนำมาตรวจด้วย TLC Scanner 3 แล้วหาความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างพื้นที่ใต้ Peak กับความเข้มข้นของสารมาตรฐานโดยใช้โปรแกรม WinCATS ใน Reflectance Absorbance Mode ที่ 254 นาโนเมตร

1.3) Precision ค่า Repeatability และ Intermediate Precision ของวิธีวิเคราะห์จะแสดงด้วยค่า Relative Standard Deviation (RSD) ของพื้นที่ใต้ Peak ค่า Intraday Precision จะทำโดยการวิเคราะห์สารมาตรฐานความเข้มข้น (240 $\mu\text{g/spot}$) ในวันเดียวกัน ส่วน Intraday Precision จะทำโดยการวิเคราะห์สารมาตรฐานที่ความเข้มข้นเดิมเป็นเวลาสองวัน ซึ่งค่า Repeatability และ Intermediate Precision ที่ได้อยู่ในเกณฑ์ไม่เกิน 2%

(1.4) Accuracy ค่าความถูกต้องของการวิเคราะห์จะหาโดยการทำการหาค่า Recovery โดยการเติมสารมาตรฐานที่รู้ปริมาณแน่นอนสามความเข้มข้น (60, 100,

180 µg/spot) ลงในสารตัวอย่าง แล้วทำการ Spot บนแผ่น TLC โดยใช้ Condition ตามข้อ 3.3.2.2 ซึ่งค่า Recovery อยู่ในเกณฑ์ที่กำหนด ในช่วง 105-95%

1.5) Limit Of Detection (LOD) และ Limit Of Quantitation (LOQ) ทำโดยการ Scan ค่า Noise ของ Blank Methanol Spot จากนั้นทำการ Spot สารมาตรฐาน Morucin ในปริมาณ 10 – 100 µg /spot บนแผ่น TLC โดยใช้ Condition ตามข้อ 3.3.2.2 โดยค่า Signal to Noise Ratio เท่ากับ 3: 1

2) การศึกษาความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์จะศึกษา 2 ประเด็น ดังนี้

2.1) Intra-Assay Precision (Repeatability) คือ ศึกษาความแม่นยำภายในแต่ละวัน โดยทำการวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญแต่ละชนิดในสารละลายตัวอย่างที่ 3 ความเข้มข้น (440, 880, 1320 นาโนกรัมต่อหนึ่งจุด) จำนวน 3 ครั้ง คำนวณหาค่า Standard Deviation (S.D.) และ % R.S.D. หากค่า % R.S.D. ที่ได้น้อยกว่า 2 % จึงจะถือว่าผ่าน

2.2) Interday Precision (Reproducibility) คือ การศึกษาความแม่นยำระหว่างวัน โดยทำการวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญแต่ละชนิดในสารละลายตัวอย่างที่ 3 ความเข้มข้น (440, 880, 1320 นาโนกรัมต่อหนึ่งจุด) เป็นจำนวน 3 วัน แล้วนำมาศึกษาความแปรปรวนของ Slope ที่ได้จากการของ Standard Curve คำนวณหาค่า % R.S.D. ของ Slope ที่ได้ทั้ง 3 วัน หากค่า % R.S.D. ที่ได้น้อยกว่า 2 % จึงจะถือว่าผ่าน

3.3.3 การเตรียมสูตรตำรับครีมพื้นในรูปแบบแอลฟาเจล

เตรียมสูตรตำรับครีมพื้นในรูปแบบแอลฟาเจล จำนวน 5 สูตร โดยใช้ Purephose alpha : Arginine ในอัตราส่วน 2 : 1 โดยกำหนดความแตกต่างของ Emollient ต่างชนิดกัน ที่ปริมาณในสูตร 10 % โดยน้ำหนัก (Shea Butter, Cocoa Butter, Coconut Wax, White Oil และ Lanolin (PEG-75)) เป็นสูตร B1, B2, B3, B4 และ B5 ตามลำดับ โดยแสดงสูตรตำรับครีมพื้น ดังตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 แสดงสูตรตำรับครีมพื้นในรูปแบบแอลฟาเจล

ส่วนประกอบ	ปริมาณในสูตรตำรับ (g)					Function
	B1	B2	B3	B4	B5	
Phase A :						
Cetyl alcohol	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	Bodying agent
Stearyl alcohol	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	Bodying agent
Purephose Alpha	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	Emulsifier
Glyceryl tri (2-ethylhexanoate)	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	Emollient
Shea butter	10					Emollient
Cocoa butter		10				Emollient
White oil			10			Emollient
Coconut wax				10		Emollient
Lanolin (PEG-75)					10	Emollient
Phase B :						
Arginine	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	Neutralizer
Glycerin	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	Humectant
1,3-Butylene glycol	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	Humectant
Xanthan gum	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	Thickener
Ion-exchanged water	q.s.100	q.s.100	q.s.100	q.s.100	q.s.100	Diluent
Phase C :						
DMDM	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	Preservative

โดยการเตรียม Phase A ผสมกันให้ความร้อนที่ 65-80 องศาเซลเซียส และเตรียม Phase B : Xanthan gum ละลายใน 1,3 Butylene glycol จากนั้นเติม Glycerin ผสม Ion-Exchanged Water และเติม Arginine โดยให้ความร้อนที่ 65-80 องศาเซลเซียส จากนั้นนำสารที่ผสมใน Phase B ใส่ลงใน Phase A ผสมกันด้วยเครื่อง Homogenizer ที่ความเร็ว 1800-2000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิ 65-80 องศาเซลเซียส จนเป็นเนื้อเดียวกัน ลดอุณหภูมิสารลงที่ 45-50 องศาเซลเซียส ใน Water Bath แล้วเติม Phase C ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน แล้วนำไปประเมินความคงตัวทางกายภาพ

3.3.4 การประเมินความคงตัวทางกายภาพของสูตรตำรับครีมพื้นในรูปแบบแอลฟาเจล

นำสูตรตำรับครีมพื้นในรูปแบบแอลฟาเจล ไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิแตกต่างกัน โดยเก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 1 เดือน เก็บรักษาที่สภาวะเร่ง Freeze-Thaw Cycle โดยเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนำไปเก็บที่อุณหภูมิที่ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำเช่นนั้นนับเป็น 1 รอบ จำนวน 6 รอบ

3.3.5 การประเมินคุณลักษณะทางกายภาพของสูตรตำรับครีมพื้นในรูปแบบแอลฟาเจล

1) สังเกตลักษณะภายนอก (Visual Observation) ของเนื้อครีม (Appearance), สี (Colour), กลิ่น (Odor), ความรู้สึกเมื่อทา (Feel on Applying), การทดสอบความหนืด (Viscosity) โดยการใช้เครื่องมือ Brookfield Viscometer VISCO STAR PLUS (Fungilab, New York) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส วัดซ้ำ 3 ครั้ง มีหน่วยเป็น cP, การแยกชั้น (Phase Separation) โดยใช้ความเร็วรอบการปั่นเหวี่ยง 10000 rpm เป็นเวลา 15 นาที และ ทดสอบความเป็น กรด-ด่าง ด้วย เครื่อง pH meter เมื่อเตรียมเสร็จใหม่ๆ เมื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 เดือน เก็บที่ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ 45 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 1 เดือน และเมื่อเก็บในสภาวะเร่ง Freeze-Thaw Cycle โดยเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง สลับกับเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง จำนวน 6 รอบ

2) ส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ภายใต้แสงโพลาไรซ์ เพื่อดูลักษณะโครงสร้างของ ครีมโดยตรวจสอบหาโครงสร้างเฉพาะของครีมในรูปแบบแอลฟาเจล ขนาด และความหนาแน่น ของอนุภาค

3.3.6 การพัฒนาสูตรตำรับครีมจากสารสกัดรากหม่อนในรูปแบบแอลฟาเจล

คัดเลือกสูตรตำรับครีมพื้นที่มีความคงตัวทางกายภาพ รวมถึงลักษณะ โครงสร้างของครีมในรูปแบบแอลฟาเจล เกิด Maltese Cross เรืองแสงในโครงสร้างมีขนาดอนุภาค เล็ก และหนาแน่น มาพัฒนาสูตรตำรับครีมจากสารสกัดรากหม่อนในรูปแบบแอลฟาเจลโดย ใส่ความเข้มข้นของสารสกัดรากหม่อน 1, 3, 5, 7 และ 9% โดยน้ำหนัก จากนั้นนำไปทดสอบความคงตัว ของสูตรตำรับทั้ง 5 สูตร โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิแตกต่างกัน โดยจะเก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

เป็นระยะเวลา 1 เดือน,เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 1 เดือน, เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา 1 เดือน และเก็บรักษาที่สภาวะเร่ง Freeze-Thaw Cycle โดยเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนำไปเก็บที่อุณหภูมิที่ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำเช่นนี้นับเป็น 1 รอบจำนวน 6 รอบ แล้วนำไปสังเกตลักษณะภายนอก (Visual Observation) ของเนื้อครีม, สี, กลิ่น, ความรู้สึกเมื่อทา, การทดสอบความหนืด, ทดสอบการแยกชั้น และทดสอบความเป็น กรด-ด่าง

3.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ผลการประเมินคุณลักษณะทางกายภาพที่วัดซ้ำ 3 ครั้ง บันทึกเป็นค่าเฉลี่ย วิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างค่าทางสถิติโดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-Way ANOVA) ของโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS รุ่น 23.0 ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในการวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าความหนืดของตำรับอิมัลชันพื้นในรูปแบบแอลฟาเจล และตำรับอิมัลชันจากสารสกัดรากหม่อนในรูปแบบแอลฟาเจล



บทที่ 4

ผลการวิจัย

4.1 ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย

4.1.1 ผลการเตรียมสารสกัดจากรากหม่อน

ผลการเตรียมสารสกัดรากหม่อน 160 กรัม ด้วยเอทานอล ปริมาตร 1.5 ลิตร เป็นระยะเวลา 7 วัน กรองกากทิ้งและนำไประเหยตัวทำละลาย พบว่าได้ สารสกัดหยาบจากรากหม่อน จำนวน 21.03 กรัม (ร้อยละ 13.1 โดยน้ำหนัก) มีลักษณะเหนียวข้น สีน้ำตาลเข้มเกือบดำ ดังแสดงในรูปที่ 4.1



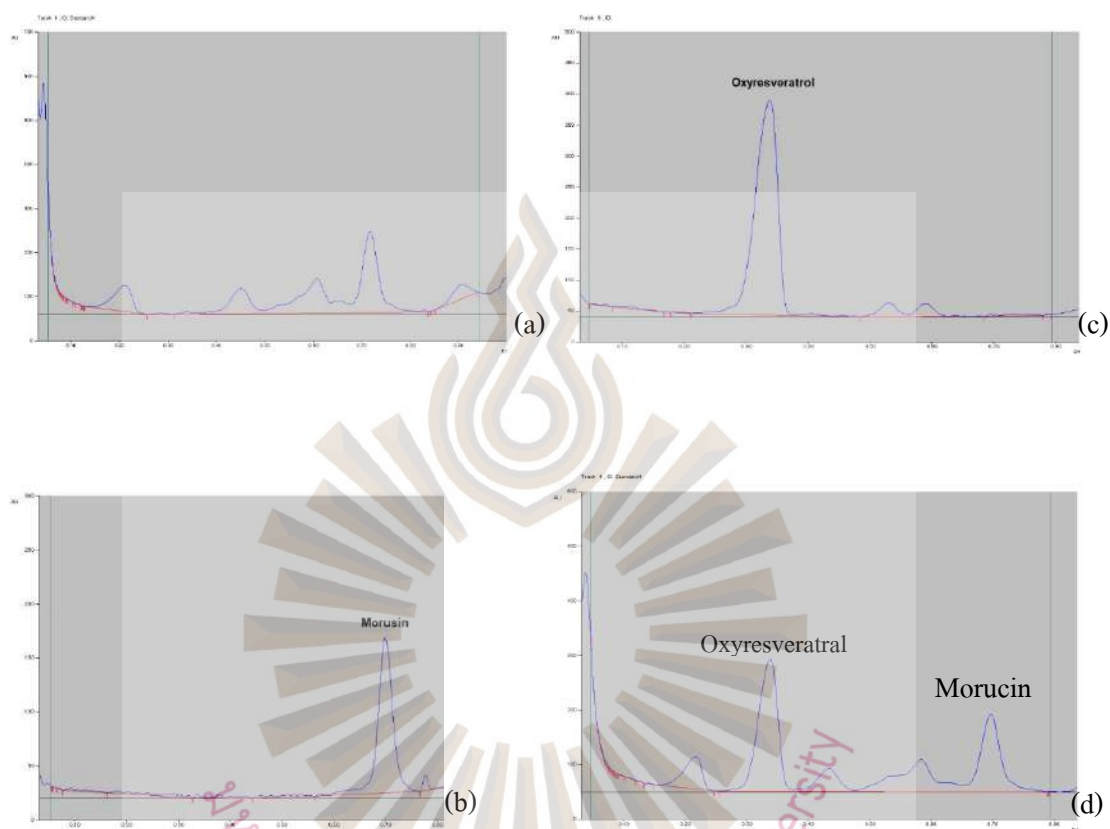
รูปที่ 4.1 ลักษณะสารสกัดจากรากหม่อน

4.1.2 ผลการแยกองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบด้วยเทคนิคแรงเคลื่อนจุด (HPTLC)

1) การวิเคราะห์ลายพิมพ์โครมาโตกราฟีด้วยเทคนิค HPTLC

เปรียบเทียบสารสกัดรากหม่อนกับสารมาตรฐาน พบสาร โมรูซิน (Morusin) ปรากฏเด่นในสารสกัด แต่ไม่พบสารออกซีเรสเวอราทรอล (Oxyresveratrol) เนื่องจากฟิคของสารออกซีเรสเวอราทรอล ปรากฏใกล้กับฟิคที่ $R_f=0.45$ จึงได้ทำการผสมสารออกซีเรสเวอราทรอลลงในสารสกัดรากหม่อน เพื่อพิสูจน์ว่าอาจมีการเลื่อนของฟิคปรากฏว่าเมื่อผสมและทำการวิเคราะห์

พบว่าสารออกซีเรสเวราทรอลไม่ซ้อนทับกับพีคใหญ่ๆ แสดงว่าสารสกัดจากรากหม่อนนี้ ไม่พบสารออกซีเรสเวราทรอล ดังแสดงในรูปที่ 4.2



รูปที่ 4.2 ลายพิมพ์โครมาโตกราฟีของสารสกัดจากรากหม่อน (a), สารมอรูซิน (b), สารมาตรฐานออกซีเรสเวราทรอล (c), ของผสมของสารสกัดจากรากหม่อนกับสารมาตรฐานออกซีเรสเวราทรอล (d)

4.1.3 ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างสารสกัดจากรากหม่อนด้วย HPTLC

1) ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างสารสกัดจากรากหม่อนด้วย HPTLC พบว่ามีสาร Morucin อยู่เท่ากับ 3.67 ± 0.22 ไมโครกรัมต่อ 25 มิลลิลิตร หรือ 3.56 ± 0.21 % yield

ตารางที่ 4.1 ผลของ Method Validation Parameters ของ Morucin โดยวิธี HPTLC

Parameter	Result
Linear Range	30-300 μg /spot
Linear Regression Equation	$y = 260.1x + 51.66^a$
Correlation Coefficient (r^2)	0.9978
Limit of Quantitation, ng	40
Limit of Detection, ng	10
Specificity	specific

หมายเหตุ ^a x คือปริมาณของ Morucin ในหน่วย μg , y คือ Peak Area ที่ 254 nm

2) ผลการ Validate วิธีวิเคราะห์

2.1) ผลการ Validate วิธีวิเคราะห์สาร Morucin ที่ความเข้มข้น 240 $\mu\text{g}/\text{spot}$ พบ % Intraday Precision ที่ 1.41 และ % Interday Precision ที่ 1.88 แสดงดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 Intraday และ Interday Precision (%CV) ของ Morucin ^a

Concentration $\mu\text{g}/\text{spot}$	Intraday Precision, %	Interday Precision, %
240	1.41	1.88

หมายเหตุ ^a %CV (n=6)

2.2) Accuracy ผลการทดสอบค่าความถูกต้องของการวิเคราะห์ ซึ่งค่า Recovery อยู่ในเกณฑ์ที่กำหนดในช่วงร้อยละ 95-105 โดยมีค่าเฉลี่ยที่ร้อยละ 101.09 แสดงดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 Recovery Study ของ Morucin

Serial Amount present				
No	In the Extract, μg	Amount added, μg	Amount found ^a , μg	Recovery ^{a,b} , %
1	142.66	60.3	203.92 ± 3.07	100.47 ± 1.51
2	142.66	100.2	245.67 ± 3.30	101.16 ± 1.36
3	142.66	180.5	328.45 ± 7.27	101.64 ± 2.25

หมายเหตุ ^a Expressed as mean standard deviation (SD, n = 3)

^b Average recovery = 101.09%

2.3) Limit Of Detection (LOD) และ Limit Of Quantitation (LOQ)

จากการทดสอบแสดงค่า LOD ซึ่งมีค่าเท่ากับ 10 μg /spot และค่า Signal to Noise Ratio เท่ากับ 10 : 1 คือ ค่า LOQ มีค่าเท่ากับ 40 μg /spot โดยค่า Signal to Noise Ratio เท่ากับ 3: 1

4.1.4 ผลการเตรียมสูตรตำรับครีมพื้นในรูปแบบแอลฟาเจล

ผลการเตรียมสูตรตำรับครีมพื้นในรูปแบบแอลฟาเจล พบว่าได้ตำรับครีมพื้นจำนวน 5 สูตร ที่มีความคงตัวของลักษณะทางกายภาพแตกต่างกัน รวมทั้งลักษณะโครงสร้างเฉพาะแอลฟาเจลที่ส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์ภายใต้แสงโพลาไรซ์มีความแตกต่างกัน

4.1.4.1 การประเมินความคงตัวของครีมตำรับพื้นในรูปแบบแอลฟาเจล ทั้ง 5 สูตรหลังจากเตรียมครีมตำรับพื้นในรูปแบบแอลฟาเจล พบว่า

สูตร B1 มีลักษณะครีมสีขาว เนื้อเนียน ไม่มีกลิ่น ชิมเข้าผิวได้ดี

สูตร B2 มีลักษณะครีมสีครีมอ่อน เนื้อเนียน ไม่มีกลิ่น ชิมเข้าผิวได้ดี

สูตร B3 มีลักษณะครีมสีขาว เนื้อครีมเนียนนุ่ม ไม่มีกลิ่น ชิมเข้าผิวได้ดี

สูตร B4 มีลักษณะครีมสีขาวขุ่น เนื้อเรียบเนียน ไม่มีกลิ่น ชิมเข้าผิวได้ดี

สูตร B5 มีลักษณะครีมสีครีมออกเหลือง เนื้อเงาเรียบเนียน ไม่มีกลิ่น ชิมเข้าผิว

ได้ไม่ดี

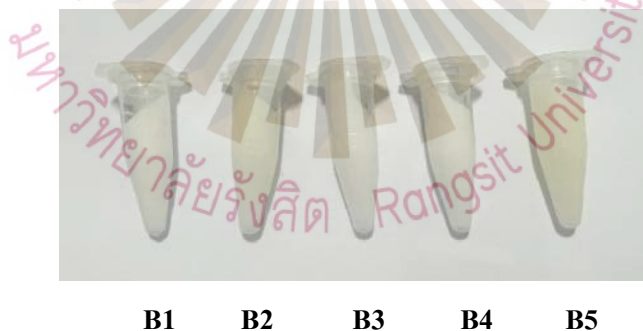
เมื่อเก็บไว้ที่สภาวะเร่ง อุณหภูมิร้อนสลับเย็น และที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 เดือน พบลักษณะทางกายภาพ เนื้อครีมสี กลิ่น และการซึมเข้าผิว ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง ดังแสดงในรูปที่ 4.3



รูปที่ 4.3 ลักษณะสูตรตำรับครีมพื้นในรูปแบบแอลฟาเจล ทั้ง 5 สูตร

4.1.4.2 การทดสอบการแยกชั้น

การทดสอบการแยกชั้น เมื่อเก็บไว้ที่สภาวะเร่ง และที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 เดือน ไม่เกิดการแยกชั้นของครีมตำรับพื้นทั้ง 5 สูตร แสดงดังรูปที่ 4.4



รูปที่ 4.4 ลักษณะของครีมตำรับพื้นในรูปแบบแอลฟาเจล ทั้ง 5 สูตร หลังเก็บที่สภาวะเร่ง จำนวน 6 รอบ ที่ผ่านการทดสอบการแยกชั้น

4.1.4.3 การทดสอบความหนืด

จากผลการทดสอบความหนืดของครีมตำรับพื้นหลังเตรียมเสร็จใหม่ๆ ที่สภาวะเร่ง Cycle 3 และ Cycle 6 และเมื่อเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 เดือน พบว่าครีมตำรับพื้น B1, B2, B3 และ B4 มีค่าเฉลี่ยความหนืดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) และ B5 ไม่สามารถทดสอบความหนืดได้เนื่องจากมีความหนืดสูงมาก โดยทำให้ทราบว่า Emollient มีผลต่อค่าเฉลี่ยความหนืดของครีมพื้น เมื่อทดสอบในสภาวะการเก็บที่อุณหภูมิต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 ค่าความหนืดของสูตรครีมตำรับพื้นทั้ง 5 สูตร หลังเก็บในสภาวะเร่ง และที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 เดือน

ชุดการทดสอบ	ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)				
	B1	B2	B3	B4	B5
หลังเตรียมเสร็จ	43035±488	57136±1106	125970±6418	59380±43	Not tested
Cycle 3	87211±4960	55038±3187	55489±692	45205±1718	Not tested
Cycle 6	89514±2901	16365±830	16648±1292	16831±465	Not tested
1 เดือน	80650±926	40469±1417	59076±1961	30570±1498	Not tested

4.1.4.4 การทดสอบค่าความเป็นกรด-ด่าง

จากผลการทดสอบค่าความเป็นกรด-ด่างของครีมตำรับพื้นทั้ง 5 สูตร หลังเตรียมเสร็จใหม่ๆ ที่สภาวะเร่ง Cycle 3 และ Cycle 6 และเมื่อเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 เดือน พบว่าค่าเฉลี่ยความเป็นกรด-ด่างของครีมตำรับพื้นแตกต่างกัน แต่ไม่ส่งผลกระทบต่อความคงตัวของครีมพื้น ดังแสดงในตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 ความเป็นกรด-ด่าง ของสูตรครีมตำรับพื้นที่ 5 สูตร ก่อน, หลังเก็บในสภาวะเร่ง และที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 เดือน

ชุดการทดสอบ	ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)				
	B1	B2	B3	B4	B5
หลังเตรียมเสร็จ	6.51±0.01	6.40±0.05	6.36±0.02	6.38±0.04	5.91±0.03
Cycle 3	6.81±0.01	6.56±0.57	6.61±0.21	6.30±0.01	6.20±0.01
Cycle 6	6.54±0.01	5.69±0.02	6.81±0.03	6.32±0.29	5.96±0.32
1 เดือน	6.54±0.06	6.33±0.14	6.36±0.08	6.40±0.02	5.89±0.11

4.1.4.5 การศึกษาลักษณะปรากฏของโครงสร้างแอลฟาเจลของครีมตำรับพื้นที่ 5 สูตร

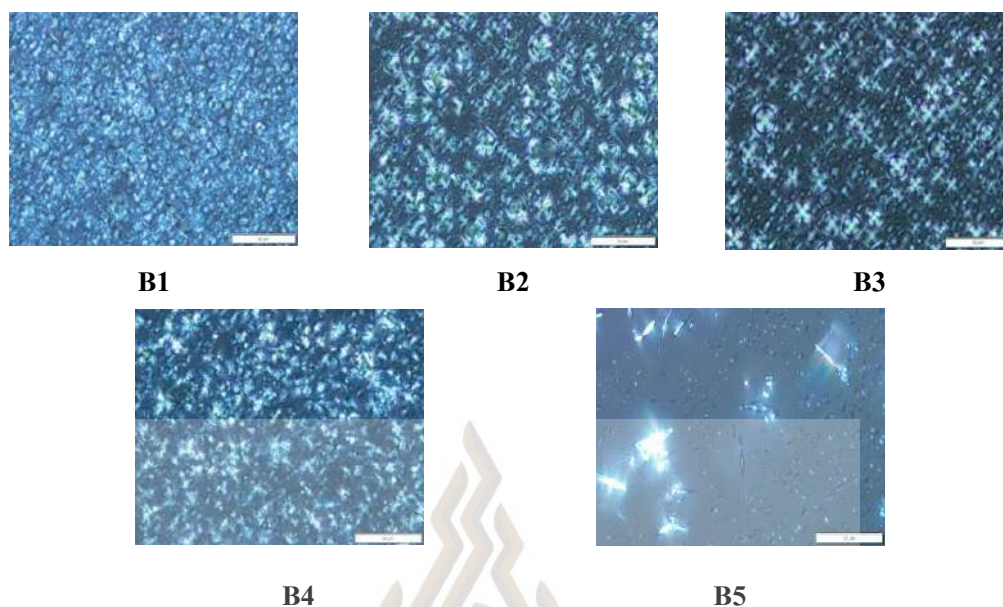
การศึกษด้วยเทคนิค Polarized-Light Microscopy (PLM) ทำร่วมกับกล้องถ่ายภาพดิจิทัล ที่กำลังขยาย 50 เท่า ที่อุณหภูมิคงที่ 25 องศาเซลเซียส พบว่า รูปร่างผลึกของครีมตำรับพื้นที่ 5 สูตร มีลักษณะของ Moltese Cross เรืองแสง เหมือนกัน แต่มีขนาด และระยะห่างระหว่างอนุภาคแตกต่างกัน ซึ่งทำให้ความคงตัว และลักษณะทางกายภาพของสูตรครีมพื้นที่ 5 สูตร แตกต่างกัน พบว่า

สูตร B1 มีลักษณะอนุภาคนาขนาดเล็ก มีความหนาแน่นของอนุภาคมาก ส่งผลให้ได้เนื้อสัมผัสที่เรียบเนียน มีความคงตัวมากที่สุด

สูตร B2 และ B3 เกิดอนุภาคนาขนาดไม่เท่ากัน มีระยะห่างระหว่างอนุภาค ส่งผลให้เนื้อครีมไม่คงตัว

สูตร B4 เกิดอนุภาคนาขนาดเล็ก ชัดเจน แต่มีระยะห่างระหว่างอนุภาคไม่เท่ากัน ส่งผลให้เนื้อครีมไม่คงตัว

สูตร B5 ไม่เกิดโครงสร้างเฉพาะแอลฟาเจล ซึ่งเป็นผลจากความหนืดของ Lanolin ที่ไม่สามารถก่อให้เกิดโครงสร้างเฉพาะของแอลฟาเจลได้ ส่งผลต่อความแตกต่างของเนื้อสัมผัสและความคงตัวในสูตร ดังแสดงในรูปที่ 4.5



รูปที่ 4.5 ลักษณะ Maltese Cross ของครีมดำรับพื้นในรูปแบบแอลฟาเจล ทั้ง 5 สูตร

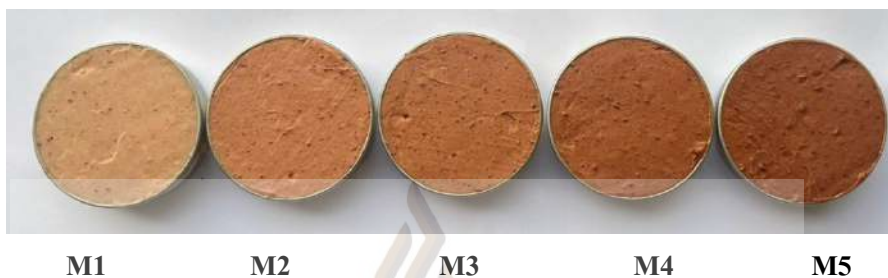
4.1.5 การพัฒนาครีมเพื่อผิวขาวจากสารสกัดรากหม่อนในรูปแบบแอลฟาเจล

ผลการทดสอบความคงตัวของครีมพื้นทั้ง 5 สูตร ได้คัดเลือกสูตร B1 ที่ผสม Emollient คือ Shea Butter เมื่อเปรียบเทียบผลการทดสอบความคงตัวที่สภาวะเร่ง พบว่าลักษณะทางกายภาพทั้ง 5 สูตร ลักษณะภายนอก สี กลิ่น และสัมผัส ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง เมื่อนำไปทดสอบการแยกชั้น ไม่พบการแยกชั้น ค่าเฉลี่ยความเป็นกรด-ด่างแตกต่างกัน แต่ไม่ส่งผลต่อความคงตัวเมื่อทดสอบความหนืดพบว่า ในสภาวะเร่งครบ 6 รอบ สูตร B1 มีค่าเฉลี่ยความหนืดเพิ่มขึ้น และเมื่อส่องผ่านแสงโพลาไรซ์พบ โครงสร้างเฉพาะแอลฟาเจลมีอนุภาคขนาดเล็ก และหนาแน่นซึ่งแสดงว่าสูตรให้ความคงตัวมากที่สุด จึงพัฒนาครีมดำรับพื้นสูตร B1 ใส่สารสกัดรากหม่อนที่ความเข้มข้น 1, 3, 5, 7 และ 9% โดยน้ำหนัก เป็นสูตร M1, M2, M3, M4 และ M5 ตามลำดับ พบว่าหลังใส่สารสกัดในความเข้มข้นที่แตกต่างกันส่งผลให้ลักษณะทางกายภาพของครีมทั้ง 5 สูตร แตกต่างกัน ดังนี้

4.1.5.1 ผลการพัฒนาครีมจากสารสกัดรากหม่อนในรูปแบบแอลฟาเจล

ผลการพัฒนาครีมจากสารสกัดรากหม่อนในรูปแบบแอลฟาเจล พบว่าครีมสูตร M1 มีสีครีมอ่อน และสูตร M2, M3, M4 และ M5 มีความเข้มของสีเพิ่มขึ้นตามลำดับ มีการกระจายของสารสกัดหยาบจากรากหม่อนไม่สม่ำเสมอทำให้เนื้อครีมไม่เรียบเนียน พบว่า

ครีมทั้ง 5 สูตร ไม่มีกลิ่น และซึมเข้าผิวได้ดี ดังแสดงในรูปที่ 4.6 เมื่อเก็บที่สภาวะเร่งจำนวน 6 รอบ เมื่อตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง, ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 1 เดือน พบลักษณะทางกายภาพ เนื้อครีม สี กลิ่น และการซึมเข้าผิว ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง



รูปที่ 4.6 ลักษณะครีมพื้นที่ใส่สารสกัดจากรากหม่อนที่ความเข้มข้น 1, 3, 5, 7 และ 9 %
โดยน้ำหนัก หลังเตรียมเสร็จ

4.1.5.2 การแยกชั้น

จากการทดสอบการแยกชั้น หลังทดสอบความคงตัวเก็บไว้ที่สภาวะเร่งจำนวน 6 รอบ เมื่อตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง, ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 1 เดือน ไม่เกิดการแยกชั้นของครีมที่พัฒนาจากสารสกัดรากหม่อนในรูปแบบแอลฟาเจลทั้ง 5 สูตร ดังแสดงในรูปที่ 4.7



รูปที่ 4.7 ลักษณะครีมพื้นที่ใส่สารสกัดจากรากหม่อนที่ความเข้มข้น 1, 3, 5, 7 และ 9 %
โดยน้ำหนัก หลังเก็บที่สภาวะเร่งจำนวน 6 รอบ ที่ผ่านการทดสอบการแยกชั้น

4.1.5.3 การทดสอบความหนืด

ตารางที่ 4.6 ค่าความหนืดของสูตรครีมตำรับที่พัฒนาจากสารสกัดรากหม่อน ทั้ง 5 สูตร หลังเก็บในสภาวะเร่ง จำนวน 6 รอบ, ที่อุณหภูมิห้อง, อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส, อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 1 เดือน

ชุดการทดสอบ	ความหนืดสูตรตำรับครีมผสมสารสกัดรากหม่อน (cP)				
	M1	M2	M3	M4	M5
หลังเตรียมเสร็จ	96700±741	40110±811	26237±211	30278±169	28271±859
Cycle 3	42290±327	46704±1989	24583±343	28240±641	25558±940
Cycle 6	27024±407	54547±1989	10556±184	28407±696	19194±350
1 เดือน	138011±822	83265±1433	43898±827	17503±1049	45526±2734
4 องศาเซลเซียส	10476±271	69020±874	46093±852	42380±782	36874±114
45 องศาเซลเซียส	33586±436	42042±66	13426±131	25317±181	22048±585

จากผลการทดสอบความหนืดของครีมตำรับที่พัฒนาจากสารสกัดรากหม่อนในรูปแบบแอลฟาเจลหลังเตรียมเสร็จใหม่ๆ ที่สภาวะเร่ง Cycle 3 และ Cycle 6 ค่าความหนืดของสูตร M1, M3, M4 และ M5 มีค่าเฉลี่ยความหนืดลดลง ส่งผลให้เนื้อครีมมีลักษณะเนียนและเหลวมากขึ้น สูตร M2 มีค่าเฉลี่ยความหนืดเพิ่มขึ้น เมื่อตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง และที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 1 เดือน พบว่าทั้ง 5 สูตร มีค่าเฉลี่ยความหนืดเพิ่มขึ้น และเมื่อทดสอบในสภาวะการเก็บที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส มีค่าเฉลี่ยความหนืดของครีมทั้ง 5 สูตร ลดลง อย่างไรก็ตาม ค่าความหนืดที่เปลี่ยนแปลงไม่ส่งผลต่อความคงตัว จากผลการทดสอบแสดงให้เห็นว่าปริมาณความเข้มข้นของสารสกัดส่งผลต่อค่าเฉลี่ยความหนืดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$)

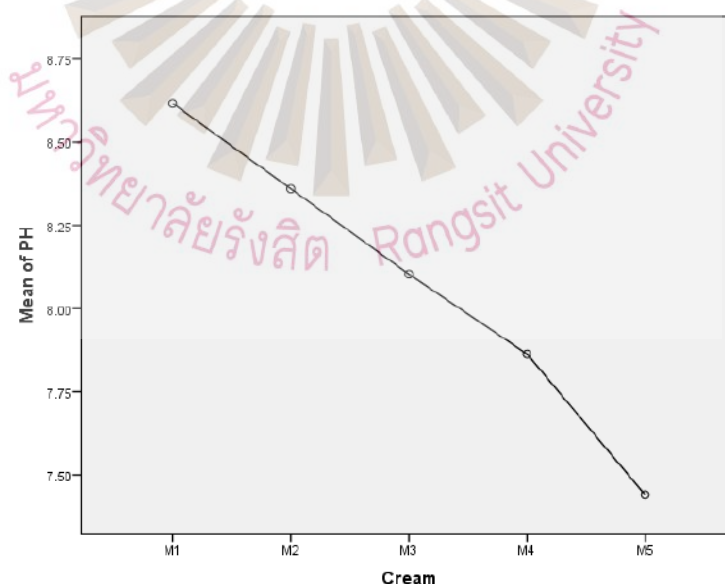
4.1.5.4 การทดสอบค่าความเป็นกรด-ด่าง (PH)

จากผลการทดสอบค่าความเป็นกรด-ด่างของครีมจากสารสกัดรากหม่อนในรูปแบบแอลฟาเจลทั้ง 5 สูตร หลังเตรียมเสร็จใหม่ๆ ที่สภาวะเร่ง Cycle 3 และ Cycle 6 และเมื่อเก็บที่อุณหภูมิห้อง, อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 1 เดือน พบว่าค่าเฉลี่ยค่าความเป็นกรด-ด่างของครีมจากสารสกัดรากหม่อนในรูปแบบแอลฟาเจลทั้ง 5 สูตร

มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) โดยปริมาณสารสกัดรากหม่อนที่เพิ่มขึ้นมีผลทำให้ค่าเฉลี่ยความเป็นกรด-ด่างลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 4.7 และ รูปที่ 4.8

ตารางที่ 4.7 ความเป็นกรด-ด่างของสูตรครีมตำรับที่พัฒนาจากสารสกัดรากหม่อน ทั้ง 5 สูตร ก่อน, หลัง หลังเก็บในสภาวะเร่ง จำนวน 6 รอบ, ที่อุณหภูมิห้อง, อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส, อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 1 เดือน

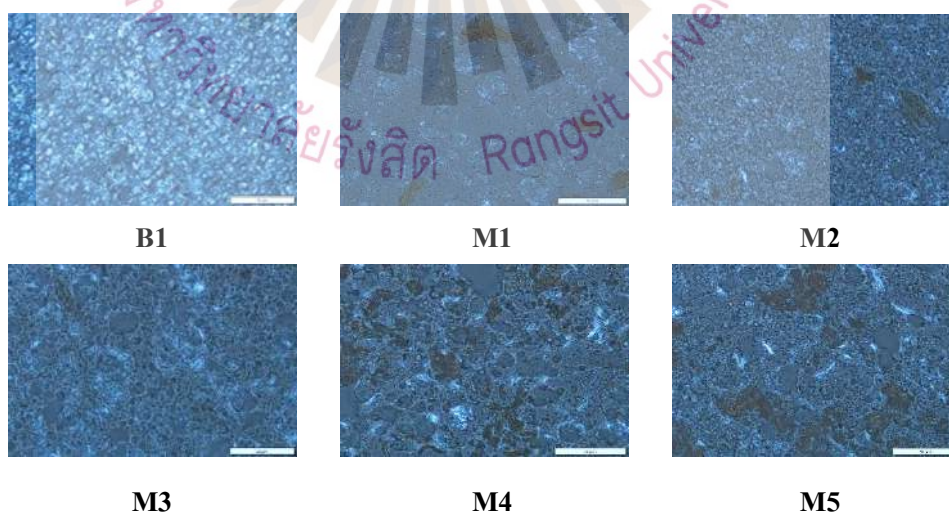
ชุดการทดสอบ	ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)				
	M1	M2	M3	M4	M5
หลังเตรียมเสร็จ	8.57±0.01	8.00±0.25	8.04±0.20	8.02±0.02	7.86±0.09
Cycle 3	8.29±0.01	8.26±0.04	7.85±0.04	7.68±0.05	6.83±0.06
Cycle 6	8.99±0.09	8.82±0.02	8.42±0.04	7.89±0.13	7.63±0.02
1 เดือน	8.29±0.02	8.24±0.03	8.15±0.05	7.86±0.02	6.86±0.15
4 องศาเซลเซียส	7.98±0.02	8.01±0.02	8.07±0.04	7.84±0.08	7.61±0.03
45 องศาเซลเซียส	8.36±0.10	8.55±0.07	8.24±0.31	7.78±0.03	7.55±0.32



รูปที่ 4.8 ปริมาณความเข้มข้นของสารสกัดรากหม่อนที่เพิ่มขึ้น ทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$)

4.1.5.5 การศึกษาลักษณะปรากฏของโครงสร้างแอลฟาเจลของครีมตำรับที่พัฒนาจากสารสกัดรากหม่อนทั้ง 5 สูตร

การศึกษาลักษณะปรากฏ ขนาด และจำนวนของอนุภาคของครีมจากสารสกัดรากหม่อนในรูปแบบแอลฟาเจลทั้ง 5 สูตร ด้วยเทคนิค Polarized-Light Microscopy (PLM) ร่วมกับกล้องถ่ายภาพดิจิทัลที่กำลังขยาย 50 เท่า ที่อุณหภูมิคงที่ ที่ 25°C ให้ผลดังแสดงในรูปที่ 4.9 ซึ่งพบว่า รูปร่างของอนุภาคครีมจากสารสกัดรากหม่อนทั้ง 5 สูตร มี Maltese Cross แตกต่างกัน มีลักษณะเรียงแสงของ Maltese Cross เหมือนกัน แต่มีลักษณะ ขนาด และระยะห่างระหว่างอนุภาคแตกต่างกัน ซึ่งส่งผลต่อความคงตัว และลักษณะทางกายภาพของสูตรครีมทั้ง 5 สูตร ดังนี้ สูตร M1 มีลักษณะอนุภาคขนาดเล็ก มีระยะห่างของอนุภาคไม่สม่ำเสมอ, สูตร M2 มีลักษณะอนุภาคขนาดเล็ก มีความหนาแน่นของอนุภาคมาก, สูตร M3 มีลักษณะอนุภาคขนาดเล็กและใหญ่ผสมกัน มีความหนาแน่นของอนุภาคไม่สม่ำเสมอ สูตร M4 และ M5 พบว่าเกิดขนาดอนุภาค และความหนาแน่นไม่สม่ำเสมอ ดังนั้น จากการศึกษาลักษณะปรากฏของโครงสร้างแอลฟาเจลของครีมที่พัฒนาจากสารสกัดรากหม่อนทั้ง 5 สูตร พบว่าสูตร M2 มีลักษณะ ขนาด และความหนาแน่นของอนุภาคใกล้เคียงสูตรครีมตำรับพื้นมากที่สุด จึงมีความคงตัวมากที่สุด จากผลการทดสอบสามารถบอกได้ว่า ปริมาณความเข้มข้นของสารสกัดมีผลต่อลักษณะ ขนาด และความหนาแน่นของอนุภาคที่เกิดจากการส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ภายใต้แสงโพลาไรซ์



รูปที่ 4.9 ลักษณะ Maltese Cross และ Particle Size ของสูตรครีมตำรับพื้น B1 และครีมตำรับที่พัฒนาจากสารสกัดรากหม่อนในรูปแบบแอลฟาเจล ทั้ง 5 สูตร

บทที่ 5

สรุปผลและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

การพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารออกฤทธิ์ของสารสกัดหยาบรากหม่อนด้วยวิธีด้วยเทคนิค รงคเลขพิวบาง (HPTLC) โดยเทียบกับสารมาตรฐาน พบสารออกฤทธิ์โมรูซิน แต่ไม่พบ ออกซีเรสเวอราทรอล เป็นไปได้ว่ารากหม่อนที่นำมาทดสอบในพื้นที่ปลูกจังหวัดเพชรบุรี ไม่สร้าง สารออกซีเรสเวอราทรอล เมื่อวิเคราะห์สาร Morucin ตัวอย่างสารสกัดรากหม่อนด้วย HPTLC พบว่า มีสาร Morucin อยู่เท่ากับ 3.67 ± 0.22 ไมโครกรัมต่อ 25 มิลลิตร หรือ 3.56 ± 0.21 % yield แสดงผล การทดสอบค่าความถูกต้องของการวิเคราะห์ให้ค่า Validate ที่ความเข้มข้น 240 $\mu\text{g}/\text{spot}$ ซึ่งค่า Recovery อยู่ในเกณฑ์ที่กำหนดในช่วงร้อยละ 95-105 โดยมีค่าเฉลี่ยที่ร้อยละ 101.09 พบ % Intraday Precision ที่ 1.41 จากการทดสอบแสดงค่า LOD ซึ่งมีค่าเท่ากับ 10 $\mu\text{g}/\text{spot}$ และค่า Signal to Noise Ratio เท่ากับ 10 : 1 คือ ค่า LOQ มีค่าเท่ากับ 40 $\mu\text{g}/\text{spot}$ โดยค่า Signal to Noise Ratio เท่ากับ 3: 1

จากผลการศึกษาลักษณะทางกายภาพของสูตรตำรับครีมพื้น โดยใช้อัตราส่วน Emulsifier ของ Purephos Alpha : Arginine ที่อัตราส่วน 2:1 ทำให้เกิดโครงสร้างแอลฟาเจลได้ใน Emollient ได้แก่ เซียร์บัตเตอร์ (B1), โกโก้บัตเตอร์ (B2), แร็กมะพร้าว (B3) และ น้ำมันขาว (B4) แต่ในสูตรที่มีลาโนลิน (B5) ไม่ก่อให้เกิดโครงสร้างแอลฟาเจล เนื่องจากมีความหนืดสูงมาก เมื่อเปรียบเทียบผลการทดสอบความคงตัวที่สภาวะเร่ง และเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 1 เดือน ลักษณะทางกายภาพของครีมพื้นทั้ง 5 สูตร ลักษณะภายนอก สี กลิ่น และสัมผัสไม่เกิดการ เปลี่ยนแปลง ไม่พบการแยกชั้น ค่าความเป็นกรด-ด่าง มีการเปลี่ยนแปลงแต่ไม่ส่งผลต่อความคงตัว ในสูตร เมื่อทดสอบความหนืด พบว่าสูตร B1, B2, B3 และ B4 มีการเปลี่ยนแปลงของความหนืด แต่ไม่ส่งผลต่อความคงตัวของเนื้อครีม สูตร B5 ไม่สามารถทดสอบความหนืดได้เนื่องจาก โครงสร้าง Emollient มีความหนืดสูง เมื่อนำไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ภายใต้แสงโพลาไรซ์ พบโครงสร้างเฉพาะแอลฟาเจล ในสูตร B1, B2, B3 และ B4 แต่ไม่พบโครงสร้างเฉพาะแอลฟาเจล ในสูตร B5 เนื่องจากมีความหนืดของเนื้อครีมสูงไม่สามารถก่อโครงสร้างแอลฟาเจลได้ จึงได้

คัดเลือกสูตร B1 ที่ผสม Emollient คือ เซียร์บัตเตอร์ มี Maltese Cross อนุภาคขนาดเล็ก และหนาแน่น ส่งผลให้สูตรมีความคงตัวมากที่สุด นำมาพัฒนาครีมเพื่อผิวขาวจากสารสกัดรากหม่อน ที่ความเข้มข้น 1, 3, 5, 7 และ 9% โดยน้ำหนัก เป็นสูตร M1, M2, M3, M4 และ M5 ตามลำดับ พบว่าความเข้มข้นของสารสกัดมีผลต่อลักษณะทางกายภาพของครีมหลังทดสอบในสภาวะอุณหภูมิต่าง ๆ ในสี กลิ่น และสัมผัส รวมถึงลักษณะโครงสร้างที่ปรากฏจากการส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ภายใต้แสงโพลาไรซ์ พบว่าสูตร M2 ใส่สารสกัดที่ความเข้มข้น 3 % โดยน้ำหนัก ให้ความคงตัวมากที่สุด และโครงสร้างลักษณะแอลฟาเจลมี Maltese Cross อนุภาคขนาดเล็ก และหนาแน่น คล้ายตำรับครีมพื้นมากที่สุด โดยสรุป ปริมาณความเข้มข้นของสารสกัดไม่มีผลต่อการศึกษาความคงตัวของครีมในสภาวะการเก็บที่อุณหภูมิต่าง ๆ

5.2 ข้อเสนอแนะ

เพื่อการพัฒนาต่อยอดในเชิงพาณิชย์ จากการศึกษาทำให้พบว่าเนื้อของครีมที่ใส่สารสกัดรากหม่อนไม่เรียบเนียนสม่ำเสมอ ทำให้การผลิตในเชิงพาณิชย์ ควรพัฒนาให้มีการทำให้สารสกัดเป็นเนื้อเดียวกัน เห็นควรมีการพัฒนาในเรื่องของสี และกลิ่นของครีม การปรับความเป็นกรด-ด่างในสูตร และการทดสอบกับผิวหนังต่อไป



บรรณานุกรม

- ชุดินันท์ ประสิทธิ์ภูริปริชา, เอกชัย คำเกลี้ยง, พงศ์ศักดิ์ สุรินตะและ วสันต์ ดีล้ำ. (2552). รายงานการวิจัยเรื่องฤทธิ์ปรับภูมิคุ้มกัน ด้านออกซิเดชันและด้านจุลชีพของสารสกัดผักพื้นบ้านและสมุนไพรอีสาน, *วารสารเภสัชศาสตร์อีสาน*, 5(2), 80-100.
- ชุดินันท์ ประสิทธิ์ภูริปริชา, เพียงเพ็ญ ธิโสดา, และ กฤตติยารัตน์ สมวงศ์. (2554). รายงานการวิจัยเรื่องฤทธิ์ชีวภาพของสารสกัดสมุนไพรไทยพื้นบ้านสำหรับกระตุ้นการสร้างเม็ดสีเพื่อใช้สำหรับผมงอกก่อนวัย. อุบลราชธานี: คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี.
- ฐานข้อมูลเครื่องยาสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. (2553). หม่อน. อุบลราชธานี: คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. สืบค้น 16 ธันวาคม 2563, จาก <http://www.thaicrudedrug.com/main.php?action=viewpage&pid=141>
- ประไพพิศ อินเสน. (2561). รายงานการวิจัยเรื่องการยับยั้งกระบวนการสร้างเม็ดสีเมลานินจากพืชกลุ่มเบอร์รี่ไทย. *วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยอีสเทิร์นเอเซีย ฉบับวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*, 12(2), 69-82.
- ประนอม สุขเกื้อ. (2557). รายงานการวิจัยเรื่องฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดจากพืชท้องถิ่น (โสน, *Sesbania javiaca* Mig.). นนทบุรี: คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ.
- ปัญญา ปัญญาทิพย์, ปิยะสุดา โทสวนจิตร, สุธาสินี ทัพพสารพงศ์, ปราโมทย์ มหุณการ, เพลินทิพย์ ภูทองกิ่ง และบันลือ สังข์ทอง. (2556). การวิเคราะห์ปริมาณเมลาโทนินและการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารสกัดจากใบหม่อน. การประชุมวิชาการและนำเสนอผลงานระดับชาติครั้งที่ 5 คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม วันที่ 16-17 กุมภาพันธ์ 2556
- พิมพ์ร ลีลาพรพิสิฐ. (2540). *อิมัลชันทางเครื่องสำอาง* (พิมพ์ครั้งที่ 1). เชียงใหม่ : งานส่งเสริมการวิจัยและตำรา กองบริการการศึกษา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- ภากรณ์ ภูสุวรรณ และประสาน ตั้งยืนยงวัฒนา.(ม.ป.ป.). *การศึกษาผลของ NIKKOMULESE LC ต่อคุณภาพของครีมมะหาดในรูปแบบผลิตภัณฑ์เหลว*. งานประชุมวิชาการระดับชาติ ครั้งที่ 1. วิทยาลัยภูมิปัญญาชุมชน มหาวิทยาลัยทักษิณ วันที่ 27-28 สิงหาคม 2558, น.146-153
- ชลดา ศรีเศรษฐ, กนกวรรณ จารุกำจรและ วรรณญา จตุพรประเสริฐ. (2559). ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของหม่อน, *วารสารเภสัชศาสตร์อีสาน*, 12(4), 14-27.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- วิชุดา จันทรขันธ์. (2551). รายงานการวิจัยเรื่องฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบเอทานอลจากหม่อน (*Morus alba* Linn.) และกาบไหม (*Bombyx mori*.) เพื่อการตั้งสูตรตำรับผลิตภัณฑ์บำรุงผิวขาว. สระแก้ว: คณะวิทยาศาสตร์และสังคมศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตสระแก้ว.
- สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน). (ม.ป.ป.). ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของหม่อนฐานข้อมูลงานวิจัยหม่อนไหม. สืบค้น 14 ธันวาคม 2563, จาก
:http://agknowledge.arda.or.th/silk&sericulture/?page_id=694
- Chang, L.W., Juang, L.J., & Wang, B.S. (2011). Antioxidant and antityrosinase activity of mulberry (*Morus alba* L.) twigs and root bark. *Food and Chemical Toxicology*, Vol.49(4), 785-790.
- Devi, B., Sharma, N., Kumar, D., & Jeet, K. (2013). *Morus alba* Linn.: a phytopharmacological review. *Int J Pharm Phram Sci*, 5(2), 14-18.
- Fan, C.W., & Alejiandro, G.M., (2016). Advances in the Application of Food Emulsifier α -gel Phases: Saturated Monoglycerides, Polyglycerol Fatty Acid Esters, and their Derivatives. *Journal of Colloid and Interface Science*, Vol.483, 394-403.
- Faizatun, E., Anwar, J., Djajadisasra, E., & Mardiyati E. (2017). The study of Antioxidant and Antityrosinase Activity of Extract from Mulberry Root (*Morus alba* L.). *Sadegh dehghanmehret al /J. Pharm. Sci. & Res.*, Vol. 9(11), 2004-2008.
- Miyahara, R., Yonezawa, T., & Miyakawa, M. (2017). *Alpha gel intermediate composition and production method for alpha gel containing O/W emulsion cosmetic using said composition*. (Japan Patent No.15807126.6). European patent office.
<https://patents.google.com/patent/EP3156037A1/en>
- Kim, Y.J., & Uyama, H. (2005). Tyrosinase inhibitors from natural and synthetic. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, Vol.62, 1707-1723.
- Kulkarni, C.V. (2012). Lipid crystallization: From self-assembly to hierarchical and biological ordering. *Nanoscale*, Vol.4, 5779-5791.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- Maneechai, S., Likhitwitayawuid, K., Sritularak, B., Palanuvej, C., Ruangrunsi, N., & Sirisa-Ard, P. (2009). Quantitative analysis of oxyresveratrol content in *Artocarpus lakoocha* and 'Puag-Haad'. *Medical Principles and Practice, Vol.18*(3), 223–227.
- Oxyresveratrol*. (2021). Retrieved December 22, 2021, from <https://en.wikipedia.org/wiki/Oxyresveratrol>
- Resveratrol*. (2021). Retrieved December 22, 2021, from <https://hmong.in.th/wiki/Resveratrol>
- Ren, H., Tang X., & Chen M. (2021). *Preparation and Characterization of Alpha Gel Formed by Fatty Alcohol and Amino Acid Surfactants*. JALA Corporation, Shanghai. Retrieved from <https://www.researchgate.net/publication/353796082>
- Skin Anatomy 101*. (2013). Retrieved December 18, 2021, from <https://cosmotruth.wordpress.com/2013/07/08/skin-anatomy-101>
- The structure of morusin*. (2021). Retrieved December 22, 2021 from https://www.researchgate.net/figure/The-structure-of-morusin_fig6_282038504
- Iwata, T. (2017) Stabilization of Emulsion by α gel. *T. Pharm Tech Japan, Vol.33.1*, 75-82.
- Suzuki, T. (2017). Liquid Crystal and α -gel-Based Emulsion and Soft Gel formulations. *Acc. Mater. Surf. Res., Vol.2* (1), 21-40.

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ	วิษุอร แสงอ่วม
วัน เดือน ปีเกิด	14 มกราคม 2538
สถานที่เกิด	จังหวัดเพชรบุรี ประเทศไทย
ประวัติการศึกษา	มหาวิทยาลัยบูรพา ปริญญาหลักสูตรการแพทย์แผนไทยประยุกต์บัณฑิต สาขาวิชาการแพทย์แผนไทยประยุกต์ ,2560 มหาวิทยาลัยรังสิต ปริญญาหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการแพทย์แผนตะวันออก ,2566
ที่อยู่ปัจจุบัน	111/27 หมู่ 2 ตำบลบ้านกุ่ม อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบุรี 76000
สถานที่ทำงาน	กรมราชทัณฑ์
ตำแหน่งปัจจุบัน	นักวิชาการอบรมและฝึกวิชาชีพปฏิบัติการ

